



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 31/70	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/39718 (43) Date de publication internationale: 12 août 1999 (12.08.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/00229 (22) Date de dépôt international: 3 février 1999 (03.02.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/01237 3 février 1998 (03.02.98) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): LABORA- TOIRES GOEMAR S.A. [FR/FR]; ZAC de la Madeleine, F-35400 Saint Malo (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): YVIN, Jean-Claude [FR/FR]; 3, rue Gabriel Desgrés, F-35400 Saint Malo (FR). CRUZ, Florence [FR/FR]; 7, rue de la Loutre, F-35400 Saint Malo (FR). DESCAMPS, Valérie [FR/FR]; 22, rue Yan d'Argent, F-29680 Roscoff (FR). RICHARD, Christophe [FR/FR]; Kernevez, F-29400 Plougourvest (FR). THIBAL, Vesna [HR/FR]; 5, rue Gentille, F-69002 Lyon (FR). ARRIGO, Patrick [FR/FR]; Jussy, F-74930 Pers-Jussy (FR). CLOAREC, Bernard [FR/FR]; 81, rue de la Rive, F-29250 Saint Pol de Léon (FR). (74) Mandataire: KOCH, Gustave; Cabinet Plasseraud, 84, rue d'Amsterdam, F-75440 Paris Cedex 09 (FR).		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>

(54) Title: MEDICINE FOR TREATING APOPTOSIS DYSFUNCTION CONTAINING OLIGOSACCHARIDES

(54) Titre: MEDICAMENT POUR LE TRAITEMENT DES DEREGLEMENTS DE L'APOPTOSE CONTENANT DES OLIGOSACCHARIDES

(57) Abstract

The invention concerns a medicine comprising, as active principle, an efficient quantity of at least an oligosaccharide substance capable of modulating apoptosis dysfunction and optionally comprising, on at least some of its unit motifs, at least a substituent of the group comprising sulphate, methyl and acetyl groups, the substance being selected from the group comprising: oligosaccharides derived by enzymatic or chemical process from polymer groups including β 1-3 glucans optionally comprising β 1-6 branches; and oligosaccharides derived by enzymatic or chemical process from sulphated galactans, in particular carrageenans, agars and porphyranes.

(57) Abrégé

L'invention a pour objet un médicament comportant, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins une substance oligosaccharidique propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et comportant éventuellement, sur au moins certains de ses motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, la substance étant choisie dans le groupe comprenant les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des galactanes sulfatés, notamment les carraghénanes, les agars et les porphyranes.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

MÉDICAMENT POUR LE TRAITEMENT DES DÉRÈGLEMENTS DE L'APOPTOSE CONTENANT DES OLIGOSACCHARIDES

L'invention a pour objet un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose.

On désigne par le terme "apoptose" la mort cellulaire programmée ou suicide cellulaire.

Cette mort correspond à une auto-élimination des cellules suivant un programme défini.

Elle se traduit tout d'abord par des renflements au niveau de la membrane plasmique, renflements qui sont accompagnés d'un changement structurel de la membrane, puis par une perte de volume de la cellule qui semble se contracter et s'effondrer sur elle-même.

Le noyau se condense et l'ADN est clivé en petits morceaux (Raff, "Nature", 356, 397, 1992; Bortner et al., "Trends in Cell. Biol." 5, 21, 1995).

In vivo, la cellule en apoptose est reconnue par les macrophages qui vont la phagocyter et l'éliminer en l'absence de tout processus inflammatoire.

In vivo toujours, l'apoptose est largement utilisée par les organismes vivants pour contrôler les populations cellulaires, en particulier les lymphocytes suite à leur activation.

Par ailleurs, l'apoptose joue, au cours du développement des organismes, un rôle primordial dans l'élimination des tissus embryonnaires non nécessaires (queue du lézard, ébauche des organes génitaux d'un sexe ou de l'autre), et dans la sculpture de l'organisme (élimination des palmures interdigitales entre les futurs doigts et autres).

Certains composés présents dans les organismes vivants induisent spécifiquement un phénomène apoptotique. Ainsi, par exemple chez les mammifères, la liaison du ligand Fas au récepteur membranaire Fas, également désigné par

APO-1 ou CD95, induit spécifiquement une apoptose; cette apoptose est utilisée par l'organisme vivant pour contrôler les populations de lymphocytes, notamment de lymphocytes T.

Les susdits récepteur et ligand représentent un système physiologique extrêmement intéressant qui est impliqué dans l'élimination spécifique de cellules qui ne sont plus désirées dans l'organisme.

On peut citer en particulier l'élimination cellulaire au cours de la maturation et de l'activation des lymphocytes T. En fait, le système Fas, c'est-à-dire Fas ligand/Fas récepteur, joue un rôle primordial dans l'homéostasie du système immunitaire.

Le récepteur Fas est un membre d'une famille de protéines qui agissent comme récepteurs à la surface des cellules et qui comprennent également les récepteurs TNF (facteur de nécrose tumorale) et NGF (facteur de croissance des nerfs).

Le récepteur Fas est exprimé dans de nombreuses cellules; il s'accumulerait au niveau de l'appareil de Golgi.

Le mécanisme par lequel le système Fas induit la mort cellulaire est inconnu mais fait appel à l'activation des protéases connues sous l'appellation ICE-like ("interleukine-1 bêta-converting enzyme" en anglais) ou caspases.

On peut noter que le ligand Fas peut être sécrété par les cellules pour induire leur propre suicide; mais étant donné que ce ligand se retrouve aussi à la surface de cellules activatrices, celles-ci vont de ce fait induire le suicide de cellules cibles par simple contact. Une fois activé, le récepteur Fas interagit avec de nombreuses protéines intracellulaires pour transmettre le signal déclenchant l'apoptose.

In vitro, il existe d'autres moyens pour induire une apoptose, par exemple en inhibant l'activité de certaines

kinases, et en particulier la kinase C; dans ce cas, on peut avoir recours à la staurosporine.

Ce produit est très efficace pour induire la mort des cellules par apoptose.

5 Il est néanmoins à remarquer que la transduction des signaux induits par la staurosporine est différente de celle faisant intervenir le récepteur Fas.

Toutefois, si les moyens d'activer l'apoptose sont différents, l'exécution du programme de mort induit par ces
10 deux modes d'activation est équivalente et caractérisée par une activation de la cascade des caspases et un dérèglement de la mitochondrie qui relâche des composés (par exemple le cytochrome C) qui vont promouvoir la destruction programmée de la cellule. Ce phénomène est énergie-dépendant mais ne
15 requiert pas la synthèse de nouvelles protéines. En fait, tout est prêt dans une cellule pour assurer sa propre destruction.

In vivo, la régulation du phénomène apoptotique a une importance considérable.

20 En effet, de nombreuses pathologies sont associées à son dérèglement.

On peut citer, par exemple, deux cas de dérèglement de l'apoptose dans lesquels celle-ci est modulée via le système Fas: il s'agit des maladies auto-immunes dans
25 lesquelles l'apoptose est déficiente et de la destruction des lymphocytes T CD4+ infectés par HIV-1 dans lesquels l'apoptose est trop active.

Dans d'autres cas tels que les dégénérescences neuronales rencontrées par exemple dans la sclérose en
30 plaques, l'apoptose est activée par des voies non encore connues.

Il existe d'autres pathologies dans lesquelles l'apoptose est déficiente; à cet égard, on peut citer l'accumulation de cellules cancéreuses dont l'apoptose
35 semblerait dépendre du système FAS ("Green", Science,

vol.278, 1246, 1997).

La Société Demanderesse, au vu des constatations rappelées ci-dessus, a eu le mérite de trouver que, dès lors que l'on dispose d'un médicament capable de moduler les dérèglements de l'apoptose tant du point de vue d'une activation dans le cas des pathologies du groupe de celles comprenant les maladies auto-immunes et les pathologies du type cancer que du point de vue de son inhibition dans le cas des pathologies du groupe de celles comprenant le SIDA, il devenait possible de lutter contre ces maladies.

Et elle a eu le mérite non moins grand de trouver que certaines substances oligosaccharidiques et monosaccharidiques comportant éventuellement, sur au moins certains de leurs motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, étaient propres à moduler les dérèglements de l'apoptose.

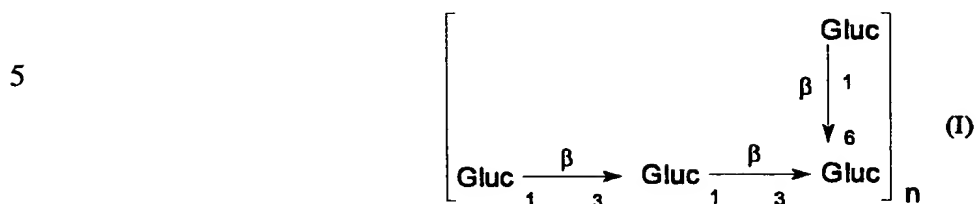
L'invention a donc pour objet un médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins une substance oligosaccharidique propre à moduler les dérèglements de l'apoptose, et comportant éventuellement, sur au moins certains de ses motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, ladite substance étant choisie dans le groupe comprenant

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6,

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des galactanes sulfatés, notamment les carraghénanes, les agars et les porphyranes.

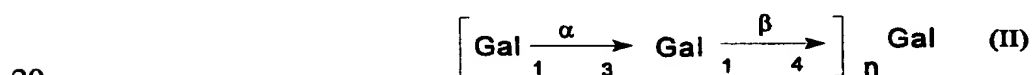
Selon un mode de réalisation avantageux, le médicament conforme à l'invention comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un

oligosaccharide propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et répondant à la formule



dans laquelle n représente un nombre entier de 1 à 50, de préférence de 5 à 10 et dans laquelle le nombre de branchements varie de 0 à 3 par unité de répétition.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, le médicament conforme à l'invention comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un disaccharide de répétition propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et répondant la formule



dans laquelle n représente un nombre entier de 1 à 50, de préférence de 1 à 20, au moins certains des disaccharides de répétition de formule (II) pouvant comporter un ou plusieurs groupes sulfate.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, le médicament conforme à l'invention comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à inhiber au moins partiellement l'apoptose et obtenu par hydrolyse à partir de iota-carraghénate de sodium, ce produit étant constitué par un mélange d'oligo-iota-carraghénanes désigné par I₉, dont la teneur en oses totaux (déterminée selon Tillmans et Philippi) est de 62% et dont le profil de distribution par taille, estimé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide selon Zablakakis et

Perez, est:

	Iota-néocarratétrase (DP 2)	8-12%
	Iota-néocarrahexase (DP 3)	23-27%
	Iota-néocarraoctase (DP 4)	18-22%
5	Iota-néocarradécaose (DP 5)	13-17%
	Iota-néocarradodécaose (DP 6)	8-12%
	Oligo-iotacarraghénane (DP 7)	3- 7%
	Oligo-iotacarraghénanes constitués par 8	
	à 15 disaccharides de répétition (DP 8-15)	13-17%.

10 Les susdites méthodes sont décrites, pour ce qui est de Zablakakis E. & Perez J., dans "*Botanica marina*", 33, 273-276 (1990) et, pour ce qui est de Tillmans J. & Philippi K., dans "*Biochem. Z.*", 215, 30-60 (1930).

15 Pour préparer le produit I₉, on peut procéder comme suit.

20 On incube le iotacarraghénane en présence de l'enzyme iotacarraghénase partiellement purifiée à une température de 45 - 50°C, puis on ultrafiltre les produits d'hydrolyse sur une membrane de 10 000 Da. On obtient ainsi le produit I₉.

Plus particulièrement, le polymère de iotacarraghénane est hydrolysé par une iotacarraghénase recombinante surexprimée dans la souche *Escherichia coli*.

25 La préparation de l'enzyme se fait par dissolution du culot bactérien (correspondant à 1 litre de culture) dans 50 ml de tampon Tris 10 mM pH 7.5, 100 mM NaCl, 5 mM CaCl₂, de façon à avoir au final, 500 U/ml.

30 Du point de vue pratique, on dissout 100 g de substrat iotacarraghénane dans 20 l d'eau distillée à chaud (80°C) de façon à obtenir à une concentration à 5 g/l puis on ajuste le pH à 7,5 avec du carbonate d'ammonium.

35 Pour effectuer l'hydrolyse, l'enzyme est ajoutée à 50 U/g de polymère. L'ultrafiltration en continu est engagée après 30 minutes; il s'agit d'une ultrafiltration tangentielle.

Pour cette ultrafiltration tangentielle, on peut utiliser un appareil de marque Pellicon comportant une cassette de 10 000 Da 0.46 m² PTGC de la Société Millipore; cet appareil est réglé sur 2 bars en entrée et 0.5 bar en sortie.

La sortie du filtrat est partiellement fermée pour maintenir le débit de filtration à 1 litre par heure.

Les caractéristiques de l'enceinte réactionnelle sont choisies de façon à permettre un approvisionnement de l'enzyme en substrat jusqu'à épuisement des 20 l de solution et le maintien d'un volume fixe de 2 litres.

On obtient 18 l d'un ultrafiltrat qui est concentré jusqu'à 1 litre par évaporation rotative, puis le concentrat est lyophilisé. Le lyophilisat ainsi obtenu contient le produit I₉.

Les oligocarraghénanes de la fraction I₉ ainsi obtenues ont été soumis à un fractionnement supplémentaire par chromatographie basse pression sur colonne de Biogel P6 puis sur colonne de Sephadex G10.

On obtient ainsi les fractions identifiées plus haut.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, le médicament conforme à l'invention comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à inhiber au moins partiellement l'apoptose et constitué par la fraction DP 7 du produit I₉.

Selon un autre mode de réalisation avantageux, le médicament conforme à l'invention comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à activer les dérèglements de l'apoptose, obtenu par extraction aqueuse acide à partir d'une algue brune dénommée *Laminaria digitata*, ce produit étant constitué par un mélange d'oligo β 1-3 glucans désignés par L₁₁ et comportant de 1 à 50, de préférence de 20 à 30 unités saccharidiques, le produit en question présentant le spectre RMN montré à la figure 1.

Il est à noter que le produit L₁₁ peut également être obtenu par extraction aqueuse à partir des algues brunes en général dont *Laminaria digitata* est un représentant.

5 La préparation du produit L₁₁ peut être effectuée comme suit.

A 300 g d'algues fraîches de type *Laminaria digitata* récoltées au mois d'août sous forme fraîche ou sèche, on ajoute progressivement 1 l d'acide sulfurique 0,3%.

10 L'opération est réalisée au bain-marie à une température d'environ 70°C pendant 2 heures et 30 minutes sous agitation.

Cette opération est renouvelée deux fois.

15 L'extrait obtenu est clarifié par filtration sur un filtre de porosité 1,2 µm.

Le liquide résultant de cette filtration est soumis à une ultrafiltration tangentielle sur une membrane de porosité 50000 Daltons.

20 L'ultrafiltration est réalisée en maintenant une pression de 1 bar.

On obtient ainsi un ultrafiltrat dont le pH est ramené à 5,5 présentant un volume d'environ 0,8 litre. Cet ultrafiltrat est soumis à une dialyse sur une membrane en ester de cellulose de porosité égale à 500 Daltons.

25 On obtient un dialysat qui est concentré à un volume de 100 ml par évaporation à 80°C à l'aide d'un dispositif de type ROTOVAPOR, puis lyophilisé.

On obtient 7 g d'une poudre couleur crème constituant le produit L₁₁.

30 Une analyse par chromatographie ionique couplée à l'ampérométrie et utilisant une résine échangeuse d'ions commercialisée par la Société DIONEX, montre que les oligo β 1-3 glucanes constitutifs de la susdite poudre ont en fait 1 à 50, de préférence de 20 à 30 unités saccharidiques.

Les conditions chromatographiques (méthode dite HPLC, c'est-à-dire "Chromatographie liquide sous haute pression") étant les suivantes:

	Colonne	Carbopac PA1
5	Débit	1 ml/min
	Détection	ampérométrique - électrode en or
	Injection	50 μ l
	Gradient d'élution	soude 50 mM / acétate de sodium 500 mM - eau déminéralisée
10	Temps d'analyse	15 minutes
	Temps de rétention	\approx 9 - 10 minutes

on a obtenu la courbe qui est montrée à la figure 16 et qui identifie le produit L₁₁.

L'examen du spectre RMN du ¹³C du produit L₁₁, réalisé à partir d'une solution à 80 mg/ml dans D₂O et représenté à la figure 1, montre un squelette de β -D-(1-3)-glucane dont les résonances des différents carbones ont pu être identifiées (elles sont réunies dans le tableau A ci-après) par comparaison avec les valeurs de la littérature [voir Williams et al., 1992 "Development of a water-soluble, sulfated (1-3)- β -D-glucan biological response modifier derived from *Saccharomyces cerevisiae*", Carbohydr. Res. 235: 247:25].

25

TABLEAU I

Déplacements chimiques (ppm) du spectre RMN du ¹³C
de l'échantillon L₁₁

Squelette de β -D-(1-3)-glucane	C1	102,76
	C2	73,41
	C3	84,94
	C4	68,45
	C5	75,89
	C6	61,06
Résidu D-mannitol	C6	63,42

30

Les médicaments conformes à l'invention définis plus

haut comportent les adjuvants de formulation classiques correspondant à leur mode d'administration et à la posologie retenues.

5 L'invention a également pour objet un procédé de préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, caractérisé par le fait que l'on fait comporter à une composition galénique au moins l'un des principes actifs identifiés ci-dessus.

10 Selon un mode de réalisation avantageux, la susdite composition galénique est propre à une administration par voie intraveineuse.

15 L'invention vise également l'utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, des substances saccharidiques du groupe comprenant les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des galactanes sulfatés, 20 notamment les carraghénanes, les agars et les porphyranes.

Plus particulièrement, elle vise l'utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, des oligosaccharides de formule (I) et de ceux de formule (II).

25 Plus particulièrement encore, elle vise l'utilisation des produits désignés par I_9 et L_{11} et des fractions DP 2 et DP 7 de I_9 en vue de la préparation de médicaments pour le traitement des dérèglements de l'apoptose.

30 L'invention sera encore mieux comprise à l'aide du complément de description qui suit et des exemples qui ne sont nullement limitatifs mais correspondent à des modes de réalisation avantageux.

35 Dans les expériences qui vont être décrites ci-après, on a travaillé sur des cultures cellulaires dans lesquelles on a déclenché un processus apoptotique en ayant

recours au système Fas ou à la staurosporine, puis on a étudié les effets de modulation pouvant être obtenus avec les produits constituant le principe actif des médicaments conformes à l'invention.

5 Dans le cadre de ces expériences, on a déterminé, d'une part, les quantités appropriées de principe actif pour obtenir l'effet recherché de modulation de l'apoptose et, d'autre part, le ou les moments auxquels il convient d'administrer, pour obtenir l'effet de modulation recherché,
10 le principe actif ou le médicament le comportant.

EXEMPLE 1

On a travaillé sur une culture de fibroblastes murins génétiquement modifiés pour exprimer constitutivement
15 le récepteur humain Fas; le principe actif testé était le produit désigné par I₉.

Dans une expérience préalable, on a montré que les fibroblastes murins sont détruits par apoptose lorsqu'ils sont mis en présence soit du ligand Fas soit d'un anticorps
20 agoniste reconnaissant le récepteur Fas et désigné dans ce qui suit par FasAb.

Dans une autre expérience préalable, on a déterminé que le produit I₉ n'altérerait pas la croissance cellulaire, qu'il n'était pas toxique vis-à-vis des fibroblastes murins
25 aux concentrations utilisées et qu'il pouvait donc être ajouté à un milieu de culture cellulaire sans créer de problèmes.

Le milieu utilisé pour la culture des fibroblastes murins est celui commercialisé par la Société Life Technologies sous l'appellation "Dulbecco's Modified Eagle
30 Medium"; ce milieu est décrit dans "Virology" 8, 396 (1959) par Dulbecco et al.

On a ajouté à ce milieu 5% en volume de sérum de veau foetal.

35 Ce milieu était ensuite inoculé avec des

fibroblastes murins en présence d'une quantité suffisante d'antibiotiques pour éliminer les possibilités de contamination; la concentration du milieu de culture en fibroblastes a été de 10^5 cellules par ml de milieu.

5 La culture a été effectuée à l'intérieur d'un incubateur dans lequel la température a été maintenue à 37°C; l'atmosphère remplissant l'incubateur contenait 5% de CO₂.

10 Après une incubation de 24 heures, on a ajouté soit le Fas ligand, soit le FasAb directement dans le milieu.

La quantité de FasAb ajoutée a été de 50 µg par ml de milieu de culture.

15 Dans ces conditions, environ 70% des cellules de la culture sont détruites par apoptose après environ 24 heures d'incubation.

Cette destruction est mise en évidence par coloration au cristal violet des cellules survivantes.

On a procédé ensuite à un certain nombre d'essais destinés à mettre en évidence l'action du principe actif.

20 Dans ces essais, on a fait varier, d'une part, la concentration à laquelle le principe actif est mis en oeuvre dans le milieu de culture et, d'autre part, le moment auquel le principe actif est ajouté à ce milieu de façon à déterminer les concentrations optimales en principe actif
25 ainsi que le ou les moments les plus opportuns d'introduction du principe actif par rapport à l'addition de FasAb.

On a fait varier les concentrations en principe actif de 0,001 à 2 mg par ml.

30 On a successivement étudié l'effet obtenu en ajoutant d'abord le principe actif avant, puis en même temps et enfin après FasAb.

Dans un premier essai, on a ajouté le principe actif 24 heures avant FasAb.

35 Dans le cadre de cet essai, on a noté l'effet obtenu

en utilisant successivement 0, puis 5, puis 10, puis 50, puis 100 et enfin 500 ng de FasAb par ml de culture et, dans chaque cas, des concentrations en principe actif successivement égales à 0,25, puis 0,5 et enfin 1 mg par ml de milieu de culture, étant entendu que l'on a également noté l'effet obtenu en l'absence de principe actif, c'est-à-dire pour une concentration de 0%.

Après 24 heures d'incubation, on procède à l'analyse de survie.

Le résultat de cette analyse est matérialisé par l'histogramme de la figure 2.

Sur l'axe des abscisses de cet histogramme, figure la concentration du milieu en FasAb exprimée en ng/ml et, sur l'axe des ordonnées, le taux de survie exprimé en %.

Pour chacune des concentrations en FasAb, on a matérialisé le taux de survie pour chacune des quatre concentrations en principe actif, soit 0 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,5 mg/ml et 1 mg/ml, par quatre rectangles parallèles à l'axe des ordonnées, l'écart-type étant matérialisé chaque fois par un segment surmontant le rectangle correspondant parallèlement à l'axe des ordonnées.

Le rectangle correspondant à 0 mg/ml de principe actif est chaque fois celui situé le plus à gauche, celui correspondant à 0,25 mg/ml de principe actif est situé sur sa droite, celui correspondant à 0,5 mg/ml est situé à la droite du précédent et ainsi de suite.

Les quatre rectangles sont chaque fois identifiés par des hachures, pointillés ou dégradés particuliers.

L'examen des résultats ainsi réunis sur l'histogramme de la figure 2 montre qu'en l'absence de principe actif, le taux de survie diminue avec l'augmentation de la concentration en FasAb et que ce taux de survie est sensiblement amélioré par l'addition du principe actif.

Dans un deuxième essai, on a ajouté au milieu de

culture en même temps le FasAb et le principe actif.

Dans ce deuxième essai, on a noté l'effet obtenu en utilisant successivement les mêmes concentrations en FasAb et en principe actif que dans le premier essai.

5 Après 24 heures d'incubation, on procède à l'analyse de survie.

10 Les résultats enregistrés sont réunis sur l'histogramme de la figure 3 qui est constitué suivant les mêmes principes que ceux exposés à propos de celui de la figure 2.

L'examen de ces résultats montre que le taux de survie évolue d'une manière analogue à celle notée pour le premier essai.

15 Dans une troisième série d'essais, on a ajouté le principe actif après FasAb, à savoir successivement:

 tout d'abord, 1 heure après le FasAb,
 ensuite, 3 heures après le FasAb et,
 enfin, 6 heures après le FasAb,

20 en faisant toujours varier la concentration en FasAb de 0 à 500 ng par ml de culture.

Dans le cas de l'addition de principe actif effectuée 1 heure après le FasAb,

- 25 - on a réuni sur l'histogramme de la figure 4 les résultats notés pour des concentrations en I_g de 0 mg/ml, de 0,005 mg/ml, de 0,01 mg/ml et enfin de 0,05 mg/ml,
- on a réuni sur l'histogramme de la figure 5 les résultats notés pour des concentrations en I_g de 0 mg/ml, de 0,1 mg/ml, de 0,25 mg/ml et enfin de 0,5 mg/ml, et
- 30 - on a réuni sur l'histogramme de la figure 6 les résultats notés pour des concentrations en I_g de 0 mg/ml, de 0,25 mg/ml, de 0,5 mg/ml et enfin de 1 mg/ml.

35 Les histogrammes des figures 4 à 6 sont constitués suivant les mêmes principes que ceux exposés à propos de celui de la figure 2.

Dans le cas de l'addition de principe actif effectuée 3 heures après l'addition de FasAb, on a réuni sur l'histogramme de la figure 7 les résultats notés pour des concentrations en I_9 de 0 mg/ml, de 0,25 mg/ml, de 0,5 mg/ml et de 1 mg/ml.

Dans le cas de l'addition de principe actif effectuée 6 heures après l'addition de FasAb, on a réuni sur l'histogramme de la figure 8 les résultats notés pour des concentrations en I_9 de 0 mg/ml, de 0,25 mg/ml, de 0,5 mg/ml et de 1 mg/ml.

Les histogrammes des figures 7 et 8 sont constitués suivant les mêmes principes que ceux exposés à propos de celui de la figure 2.

L'examen de l'ensemble des résultats réunis sur les histogrammes des figures 4 à 8 montre que, dans le cas de l'addition du principe actif après l'addition de FasAb, le taux de survie augmente toujours; cet effet a toutefois tendance à diminuer lorsqu'augmente le temps écoulé entre les additions successives de FasAb et de principe actif; il est par ailleurs sensible à la concentration en principe actif lorsque celle-ci est inférieure à 0,25 mg/ml; on n'obtient pas d'amélioration sensible pour les concentrations supérieures à 0,25 mg/ml.

Dans l'expérience qui vient d'être décrite, l'apoptose était induite par le système FasAb.

On a effectué une autre expérience en induisant l'apoptose par l'inhibiteur de kinase constitué par la staurosporine.

Il est rappelé que la staurosporine induit une mort apoptotique dans le cas de la plupart des cellules à des doses variant de 0,5 à 5 μ M.

Dans cette expérience, l'addition de staurosporine et de I_9 était simultanée.

On a utilisé deux doses de I_9 , à savoir 0,2 mg/ml et 0,5 mg/ml.

La staurosporine a été mise en oeuvre à raison de 0,5 μM puis de 1 μM et enfin de 1,5 μM .

Le taux de survie des cellules traitées a été déterminé dans chaque cas après 18 heures d'incubation.

5 Les résultats enregistrés apparaissent sur l'histogramme représenté à la figure 9 et qui montre le taux de survie exprimé en % en fonction de la concentration en staurosporine et pour les doses de I_9 identifiées plus haut.

10 Une expérience témoin a été effectuée pour une concentration en staurosporine de 0 μM .

L'examen des résultats apparaissant sur l'histogramme montre que la mise en oeuvre de I_9 atténue l'apoptose induite par la staurosporine.

15 Il résulte des deux expériences qui viennent d'être décrites que le médicament conforme à l'invention permet d'obtenir une atténuation significative de l'apoptose lorsque celle-ci est induite par différents agents. -

EXEMPLE 2

20 Dans cet exemple, la culture cellulaire étudiée était une culture de cellules humaines immortalisées, constituées de lymphocytes T (type Jurkat).

25 Le milieu de culture utilisé est celui commercialisé par la Société Life Technologies sous l'appellation "RPMI 1640 Medium"; ce milieu est décrit par Moore et al. dans la publication "A.M.A." 199, 519 (1967).

On ajoute à ce milieu 10% en volume de sérum de veau foetal et des antibiotiques pour éliminer les possibilités de contamination.

30 On inocule ce milieu avec une quantité de 10^6 lymphocytes T par ml de milieu.

La température de l'incubation est de 37°C et l'atmosphère remplissant l'incubateur contient 5% de CO_2 .

35 Après une incubation de 24 heures, on ajoute simultanément le FasAb et le principe actif.

La quantité de FasAb (il s'agit de celui fabriqué par la Société Upstate Biotechnology et commercialisé sous le n° de catalogue 05-201 par la Société Euromedex) ajoutée est de 50 ng/ml de culture.

5 Le principe actif est constitué successivement par le produit I₉ et le produit L₁₁.

Les quantités mises en oeuvre sont dans chaque cas de 0,5 mg/ml.

10 L'analyse de survie est effectuée 18 heures après le début de l'expérience.

Cette analyse de survie consiste à faire passer un volume de culture contenant 10⁴ cellules dans un appareil du type de ceux qui fonctionnent par cytométrie de flux, en l'occurrence celui commercialisé par la Société Beckton Dickinson sous l'appellation "FAC Scan cytometer".

15 Cet appareil utilise une sonde qui détecte la présence de phosphatidyl sérine à la surface des cellules; la présence de ce produit montre que les cellules en question sont apoptotiques.

20 Les résultats de cette analyse apparaissent sur les figures 10 à 13 sur chacune desquelles sont représentés trois polygones, respectivement A, B et C dont les contours sont définis pour être représentatifs de populations cellulaires distinctes; le polygone A entoure un ensemble de
25 cellules vivantes, le polygone B un ensemble de cellules apoptotiques et le polygone C un ensemble de cellules mortes.

Dans le tableau II ci-après, on a réuni les pourcentages de cellules vivantes, de cellules apoptotiques
30 et le pourcentage de cellules mortes dans le cas de chacune des figures 10 à 13 qui vont être commentées ci-après.

TABLEAU II

	Cellules vivantes Polygone A	Cellules apoptotiques Polygone B	Cellules mortes Polygone C
Contrôle (Fig. 10)	97 %	1 %	1 %
FasAb (Fig. 11)	77 %	21 %	1 %
FasAb / I _g (Fig. 12)	90 %	2 %	6 %
FasAb / L ₁₁ (Fig. 13)	74 %	13 %	9 %

La figure 10 illustre l'analyse de survie effectuée sur un échantillon d'un milieu de culture dans lequel on n'a ajouté ni FasAb, ni principe actif; il s'agit d'un témoin; dans ce cas, on voit qu'il n'y a substantiellement que des cellules vivantes qui se trouvent dans le polygone A (voir ligne 1 du tableau II).

La figure 11 illustre l'analyse de survie effectuée sur un échantillon d'un milieu de culture dans lequel on n'a ajouté que du FasAb; dans ce cas, on voit que le polygone B contient 21% de cellules apoptotiques (voir ligne 2 du tableau II).

La figure 12 illustre l'analyse de survie effectuée sur un échantillon d'un milieu de culture ayant été additionné simultanément de FasAb et de principe actif I_g (0,5 mg/ml) ; dans ce cas, on voit que le polygone B ne contient pratiquement pas de cellules apoptotiques (2%), le polygone A contenant beaucoup de cellules vivantes et le polygone C une certaine concentration (6%) de cellules mortes (voir ligne 3 du tableau II).

La figure 13 illustre l'analyse de survie effectuée sur un échantillon d'un milieu de culture ayant été additionné simultanément de FasAb et de principe actif L₁₁ (0,5 mg/ml); dans ce cas, on voit que le polygone B contient une quantité importante (13%) de cellules apoptotiques et le polygone C une quantité non négligeable (9%) de cellules mortes (voir ligne 4 du tableau II).

Les conclusions susceptibles d'être tirées de l'examen des figures 10 à 13 et de l'analyse du pourcentage des cellules présentes dans les différents polygones font, par conséquent, que le principe actif I₉, dans le cadre de cette expérience, inhibe l'apoptose FasAb (on passe de 21% à 2% de cellules apoptotiques). Toutefois, une légère augmentation du nombre de cellules mortes est notée (ce nombre passe de 1% à 6%). Si on considère le nombre de cellules vivantes, une protection de 13% est observée (on passe de 77% à 90%).

Concernant le principe actif L₁₁, on observe une augmentation du nombre de cellules mortes (on passe de 1% à 9%) par rapport à l'effet induit par FasAb uniquement. Le principe L₁₁, bien que n'induisant pas un effet important sur le nombre de cellules vivantes, agirait donc comme un potentialisateur de la mort cellulaire.

Dans le but d'optimiser l'action de L₁₁, on a réalisé les expériences suivantes.

On administre, en utilisant la même culture que précédemment:

➤ dans une première expérience, 50 ng/ml de FasAb seul (de la provenance Euromedex identifiée plus haut)

➤ dans une deuxième expérience, la même quantité du même FasAb simultanément à 0,5 mg/ml de produit L₁₁ et

➤ dans une troisième expérience, 0,5 mg/ml du produit L₁₁ puis, 24 heures plus tard, 50 ng/ml du même FasAb.

Les résultats obtenus après 18 heures d'incubation sont comme suit en comparaison avec ce qui est observé sur une culture témoin n'ayant été additionnée ni de FasAb ni de L₁₁, la grandeur prise en considération étant le nombre de cellules vivantes:

- dans le cas d'addition de FasAb seul : le nombre de cellules vivantes diminue de 3,6%,
- dans le cas de l'addition simultanée de FasAb et de L₁₁, le nombre de cellules vivantes diminue de 6,4% et

- dans le cas de l'addition différée de FasAb et de L₁₁, le nombre de cellules vivantes diminue de 13,7%.

Il s'ensuit que L₁₁ est beaucoup plus actif lorsqu'il est administré avant FasAb.

5 On indique que des résultats analogues ont été obtenus en remplaçant le FasAb identifié ci-dessus par un FasAb d'une autre origine, c'est-à-dire celui fabriqué par la Société Alexis Corporation (San Diego, USA) et commercialisé par la Société Coger SA (Paris).

10 De l'examen des résultats des expériences qui précèdent, il apparaît qu'un médicament à base du produit L₁₁ permet de potentialiser l'apoptose; on peut donc envisager son utilisation dans le traitement de maladies du type auto-immunes et du cancer.

15 D'autres expériences ont permis de vérifier les effets produits par l'administration du produit I₉, d'une part, dans des cultures de lymphocytes dans lesquels a été induite une apoptose Fas de faible intensité et, d'autre part, dans le cas des cultures de lymphocytes dans lesquels
20 a été induite une apoptose Fas de forte intensité.

L'apoptose Fas de faible intensité peut être induite en utilisant un FasAb de provenance Euromedex; une telle apoptose peut être de l'ordre de 3 à 10%.

25 L'apoptose Fas de forte intensité peut être induite en utilisant un FasAb de provenance Alexis Corporation; une telle apoptose peut être de l'ordre de 20 à 50%.

30 Les expériences réalisées en mettant en oeuvre une dose de 0,2 mg/ml du produit I₉ sont illustrées par la figure 14 qui montre les effets enregistrés, c'est-à-dire soit la stimulation soit l'inhibition de l'apoptose (exprimées en %) en fonction de l'intensité de l'apoptose (en %) induite par FasAb seul (concentrations de 50 à 200 ng/ml).

La figure 14 montre que

35 • dans le cas d'apoptoses de faible intensité, de l'ordre

de 3 à 10%, matérialisées sur l'axe des abscisses par les points a, b, c, d, e, f, g, h, i, l'administration de I₉ provoque une potentialisation de 20 à 40% de l'apoptose par rapport à l'apoptose induite par FasAb seul et

- dans le cas d'apoptoses de forte intensité, de l'ordre de 20 à 50%, matérialisées sur l'axe des abscisses par les points l, m, n, p, q, l'administration de la même quantité de I₉ provoque une inhibition de l'apoptose de 5 à 20% par rapport à l'apoptose produite par FasAb seul.

Sachant qu'il est possible de déterminer chez un sujet donné l'apoptose induite au niveau des lymphocytes, il devient donc possible de moduler celle-ci selon l'intensité constatée de ladite apoptose dans le sens de la potentialisation ou dans le sens de l'inhibition en administrant à ce sujet un médicament à base de I₉.

Ce médicament pourra, par conséquent, permettre de corriger l'apoptose dans le sens de la potentialisation lorsque le sujet est atteint d'une affection du type cancer ou maladie auto-immune correspondant à une apoptose faible et dans le sens d'une inhibition lorsque le sujet est atteint d'une affection du type syndrome immuno-déficient correspondant à une apoptose forte.

Ceci étant, on précise que les lymphocytes T type Jurkat présentes dans les cultures soumises aux expériences qui précèdent, sont des cellules dont le gène suppresseur de tumeur p53 ou protéine p53 (Bing An et al., 1998, "Cell Death and Differentiation" 5, 1062-1075) est muté et, de ce fait, inactif.

Les effets observés avec les produits utilisés conformément à l'invention, notamment avec I₉ et L₁₁, sont donc probablement p53 indépendants; autrement dit, les produits I₉ et L₁₁ sont capables de potentialiser la stimulation ou l'inhibition de l'apoptose de par leur seule

présence et indépendamment de la présence ou de l'absence du gene p53 actif.

Or, dans la plupart des cancers humains (voir Hollstein et al., 1994, "Nucl. Acid Res.", 22, 3551), la protéine p53 est mutée, donc inactive; il s'ensuit que la mise en oeuvre d'un médicament à base d'un des produits conformes à l'invention et en particulier des produits I₉ et L₁₁ permet de remédier aux dysfonctionnements de la protéine p53 et de traiter les affections du type cancer et les maladies auto-immunes.

L'invention permet, par conséquent, de traiter les affections en question par une voie fondamentalement différente et plus simple que la thérapie génique qui repose sur le principe visant notamment à réintroduire un gène p53 normal dans le génome des cellules mutées d'un sujet malade.

On sait que la plupart des cellules cancéreuses ont perdu leur sensibilité à l'apoptose FasAb et que la plupart des agents anticancéreux actuellement utilisés agissent en activant le gène p53 qui, lui, agit positivement sur le système FasAb. Or, ces systèmes ne fonctionnent plus si p53 est muté (Müller et al. 1998, J. Exp. Med. 188, 2033-2043).

Selon les observations récentes, le système FasAb est capital pour la destruction des cellules cancéreuses, soit par le système immunitaire, soit par l'action des drogues anticancéreuses; il s'ensuit que le fait que les produits utilisés conformément à l'invention et notamment I₉ et L₁₁ modulent l'apoptose desdites cellules cancéreuses de manière indépendante de p53, revêt une importance considérable et permet d'envisager la mise au point d'une nouvelle génération de médicaments notamment anticancéreux.

EXEMPLE 3

Le produit I₉ est composé, comme montré plus haut, d'un mélange d'oligo-iota-carraghénanes.

On a testé l'effet induit par différents

constituants de ce mélange, en particulier des fractions DP 2, DP 3, DP 4, DP 5 et DP 7.

On a également testé le polymère constituant la matière première de I₉, ainsi que le produit dénommé KIK (hexasaccharide de type kappa-iota-kappa).

Pour ces expériences, on a procédé comme indiqué à l'exemple 1 en introduisant simultanément, d'une part, 0,2 mg/ml de chacune des susdites fractions de I₉ et, d'autre part, 100 ng/ml de FasAb d'origine Euromedex.

Après 24 heures d'incubation, on a fait les constatations résumées ci-après.

Les fractions DP 2, DP 3, DP 4 et DP 5 sont inactives et ne stimulent pas l'apoptose induite par une faible dose (100 ng/ml) de FasAb de provenance Euromedex qui induit par elle-même 6% de mort cellulaire après 18 heures d'incubation.

Par contre, un effet stimulateur très fort est obtenu pour la fraction DP 7 (50%) et par le produit I₉ (70%), ce qui montre qu'un des composants actifs du mélange I₉ peut être constitué par la fraction DP 7; par ailleurs, le produit KIK n'a pas d'activité.

On a enfin trouvé que le polymère constituant la matière première pour la préparation de I₉ avant clivage par l'enzyme iotase est, lui aussi, actif et stimule une apoptose Fas de faible intensité. Par contre, l'enzyme iotase elle-même, mise en oeuvre à raison de 50 unités, n'a pas d'activité lorsqu'elle est incubée avec les cellules.

Il s'ensuit que le principe actif I₉, qui n'a pas d'activité apoptotique intrinsèque, induit une très forte stimulation dans le cas d'une apoptose FasAb de faible intensité.

EXEMPLE 4

Il a été procédé à une expérience complémentaire confirmant les résultats traduits par la figure 14.

Dans le cas des phénomènes apoptotiques induits par Fas, la première des caspases de la cascade de caspases activées est la caspase 8.

Il a été procédé à la mesure de l'activité de cette capsase 8, qui est une enzyme protéolytique, après lyse des cellules Jurkat traitées ou non avec FasAb seul et avec FasAb en même temps qu'avec I₉.

Pour ce faire, on a mesuré

- l'activité de la caspase 8 dans une première fraction d'une culture de cellules Jurkat en l'absence de FasAb et de I₉; le pourcentage de cellules vivantes dans la culture est de 93%;
- l'activité de la caspase 8 dans une deuxième fraction de la même culture, 18 heures après incubation avec 500 ng/ml de FasAb de provenance Euromedex (qui, comme indiqué plus haut, induit une faible apoptose, de l'ordre de 13%); le pourcentage de cellules vivantes dans la culture est de 80%;
- l'activité de la caspase 8 dans une troisième fraction de la même culture, 18 heures après incubation avec 500 ng/ml de FasAb de provenance Euromedex et de 0,2 mg/ml de I₉; le pourcentage de cellules vivantes dans la culture est de 50%;
- l'activité de la caspase 8 dans une quatrième fraction de la même culture, 18 heures après incubation avec 25 ng/ml de FasAb de provenance Alexis (qui, comme indiqué plus haut, induit une apoptose intense, de l'ordre de 40%); le pourcentage de cellules vivantes dans la culture est de 53%;
- l'activité de la caspase 8 dans une cinquième fraction de la même culture, 18 heures après incubation avec 25 ng/ml de FasAb de provenance Alexis et de 0,2 mg/ml de I₉; le pourcentage de cellules vivantes dans la culture est de 59%;

La mesure de l'activité caspase a été effectuée

chaque fois à l'aide du kit commercialisé par la Société Ozyme sous la dénomination "Apo Alert Flice FLuor" No. K2028-2.

Les résultats de ces mesures sont réunis dans l'histogramme de la figure 15.

L'examen de cet histogramme montre que

- l'activité caspase 8 est faiblement stimulée (facteur voisin de 1,37) par FasAb Euromedex seul, l'administration simultanée de I_g induisant une stimulation forte (facteur voisin de 3,93);
- l'activité caspase 8 est fortement stimulée (facteur voisin de 4,96) par FasAb Alexis seul, cette forte stimulation étant diminuée (facteur voisin de 4,05) lorsque I_g est introduit simultanément à FasAb Alexis.

Il existe, par conséquent, une corrélation nette entre l'apoptose et l'activité caspase 8.

Le produit I_g représente donc un produit capable de moduler l'activité de la caspase 8.

Le fait que l'on montre que cette enzyme est essentielle dans la voie biochimique de l'apoptose induite par Fas (Juo et al., Curr. Biol. 8, 1001-1008, 1998), permet d'envisager de nouveaux médicaments à base d'oligosaccharides permettant de cibler les enzymes du type caspase.

Ces produits représentent donc une alternative à une thérapie basée sur des peptides portant la séquence reconnue par la caspase 8 ("substrats suicide" de caspase 8).

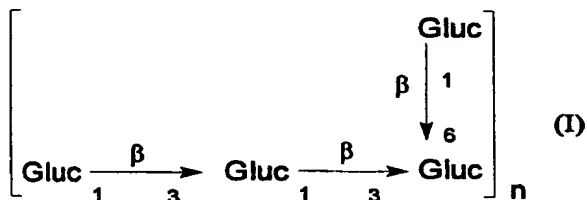
REVENDICATIONS

1. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins une substance oligosaccharidique propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et comportant éventuellement, sur au moins certains de ses motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, la substance étant choisie dans le groupe comprenant

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et

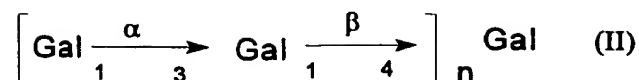
- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des galactanes sulfatés, notamment les carraghénanes, les agars et les porphyranes.

2. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un oligosaccharide propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et répondant à la formule



dans laquelle n représente un nombre entier de 1 à 50, de préférence de 5 à 10 et dans laquelle le nombre de branchements varie de 0 à 3 par unité de répétition.

3. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un disaccharide de répétition propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et répondant à la formule



5 dans laquelle n représente un nombre entier de 1 à 50, de préférence de 1 à 20, au moins certains des disaccharides de répétition de formule (II) pouvant comporter un ou plusieurs groupes sulfate.

10 4. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à inhiber au moins partiellement l'apoptose et obtenu par hydrolyse à partir de iota-carraghénate de sodium, ce produit étant constitué par un mélange d'oligo-iota-carraghénanes désigné par I₉, dont la
15 teneur en oses totaux (déterminée selon Tillmans et Philippi) est de 62% et dont le profil de distribution par taille, estimé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide selon Zablakis et Perez, est:

	Iota-néocarratétraose (DP 2)	8-12%
20	Iota-néocarrahexaose (DP 3)	23-27%
	Iota-néocarraoctaose (DP 4)	18-22%
	Iota-néocarradécaose (DP 5)	13-17%
	Iota-néocarradodécaose (DP 6)	8-12%
	Oligo-iotacarraghénane (DP 7)	3- 7%

25 Oligo-iotacarraghénanes constitués par 8
à 15 disaccharides de répétition (DP 8-15) 13-17%.

5. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à activer les dérèglements de l'apoptose,
30 obtenu par extraction aqueuse acide à partir des algues brunes et plus particulièrement d'une algue brune dénommée *Laminaria digitata*, ce produit étant constitué par un mélange d'oligo β 1-3 glucans désignés par L₁₁ et comportant de 1 à 50, de préférence de 20 à 30 unités saccharidiques,
35 le produit en question présentant le spectre RMN montré à la

figure 1.

6. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à activer les dérèglements de l'apoptose et constitué par la fraction DP 7 du produit I₉.

7. Procédé de préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, caractérisé par le fait que l'on fait comporter à une composition galénique au moins l'un des principes actifs des médicaments selon au moins l'une des revendications 1 à 6.

8. Utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, d'au moins l'une des substances oligosaccharidiques comportant éventuellement, sur au moins certains de leurs motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, lesdites substances qui sont propres à moduler les dérèglements de l'apoptose étant choisies dans le groupe comprenant

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des galactanes sulfatés, notamment les carraghénanes, les agars et les porphyranes.

9. Utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, des oligosaccharides de formule (I) et de ceux de formule (II).

10. Utilisation des produits désignés par I₉ et L₁₁ et du produit constituant la fraction DP 7 du produit I₉ en vue de la préparation de médicaments pour le traitement des dérèglements de l'apoptose.

1/8

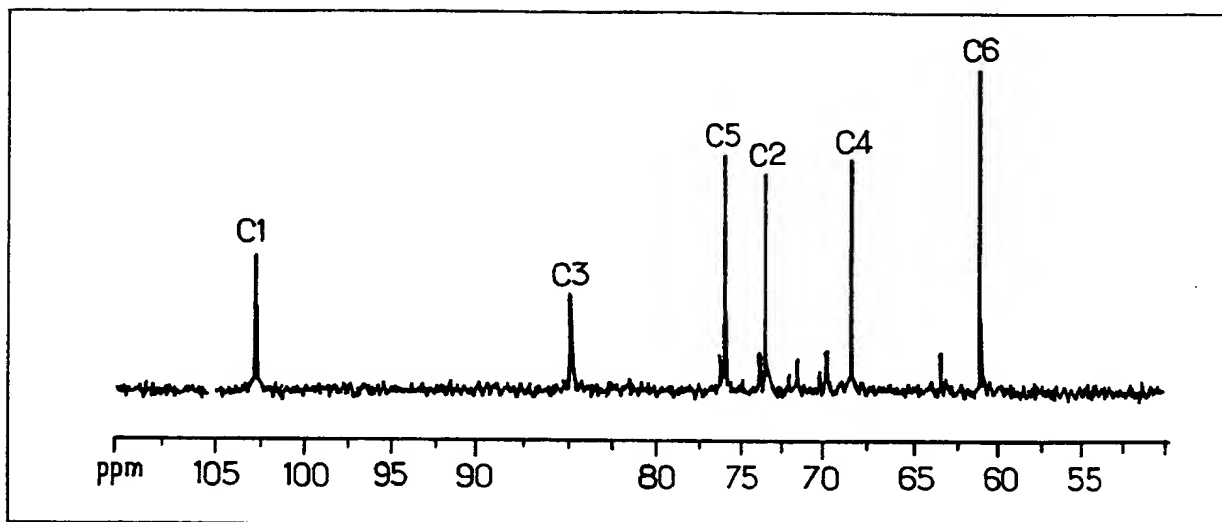


FIG.1.

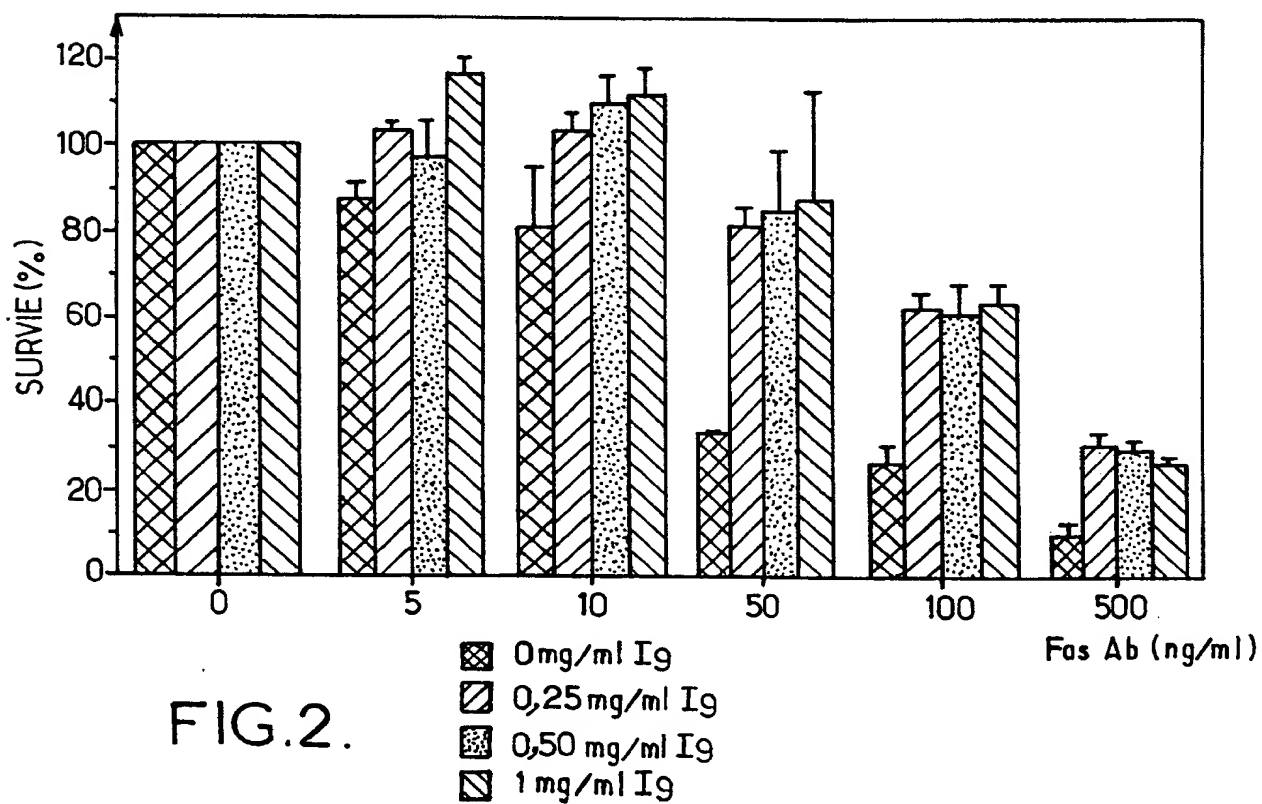
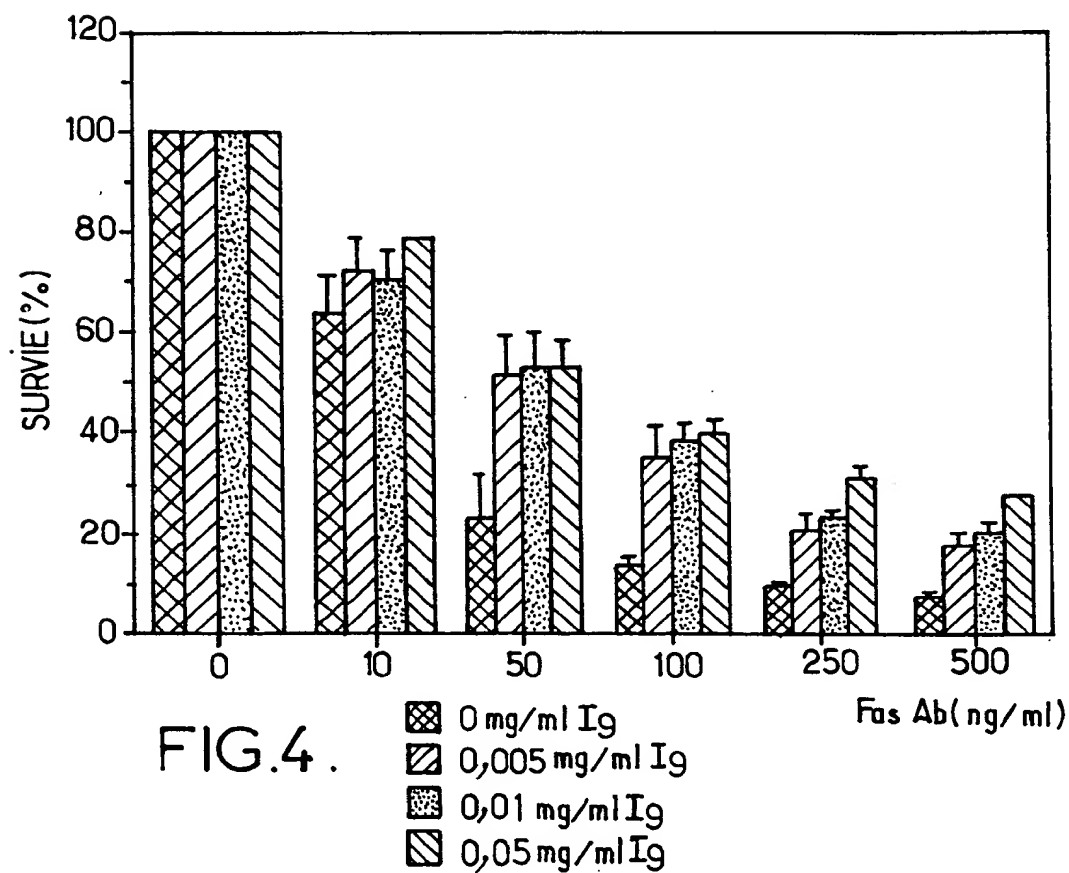
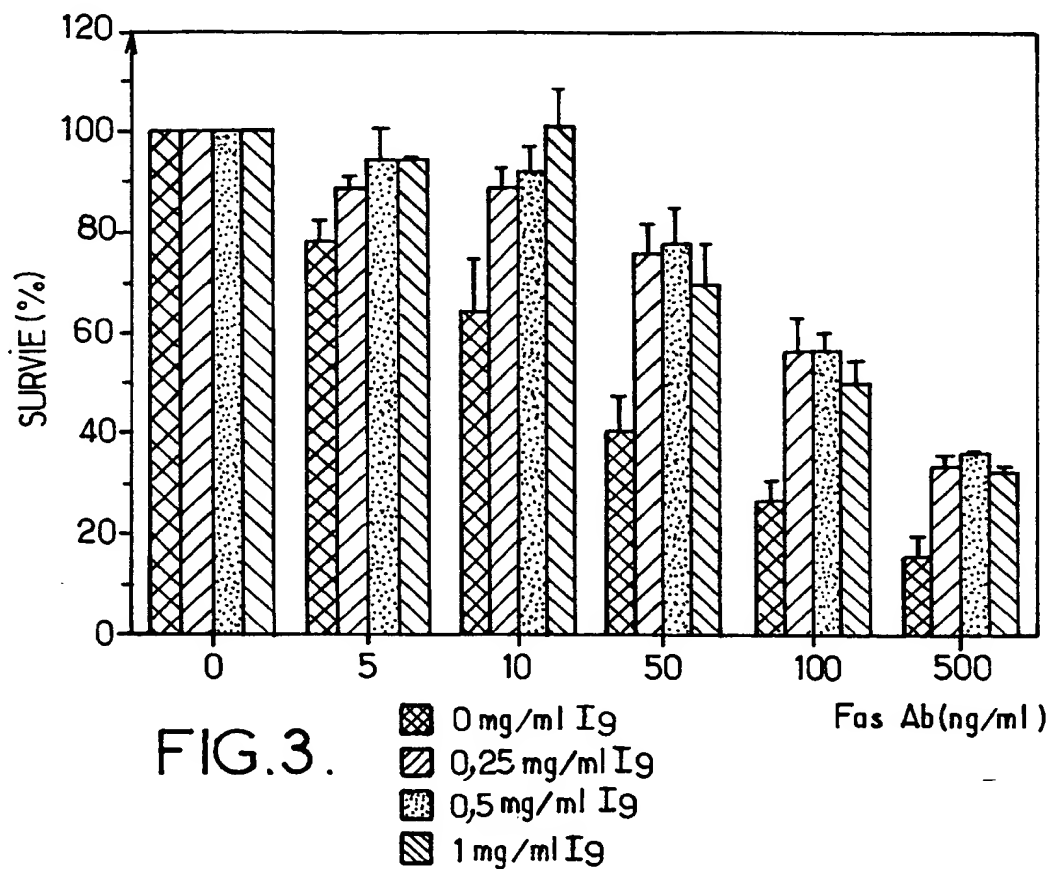
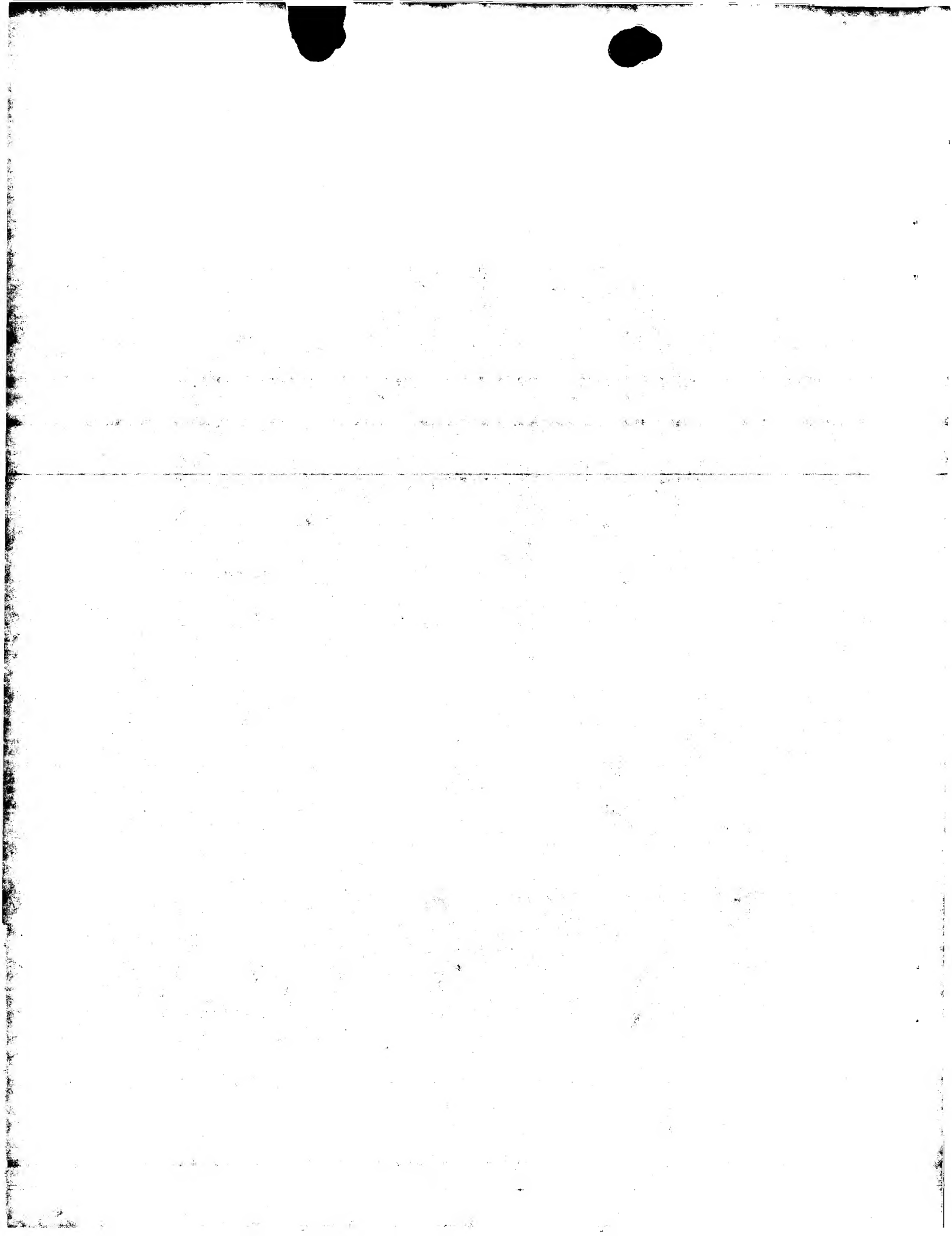


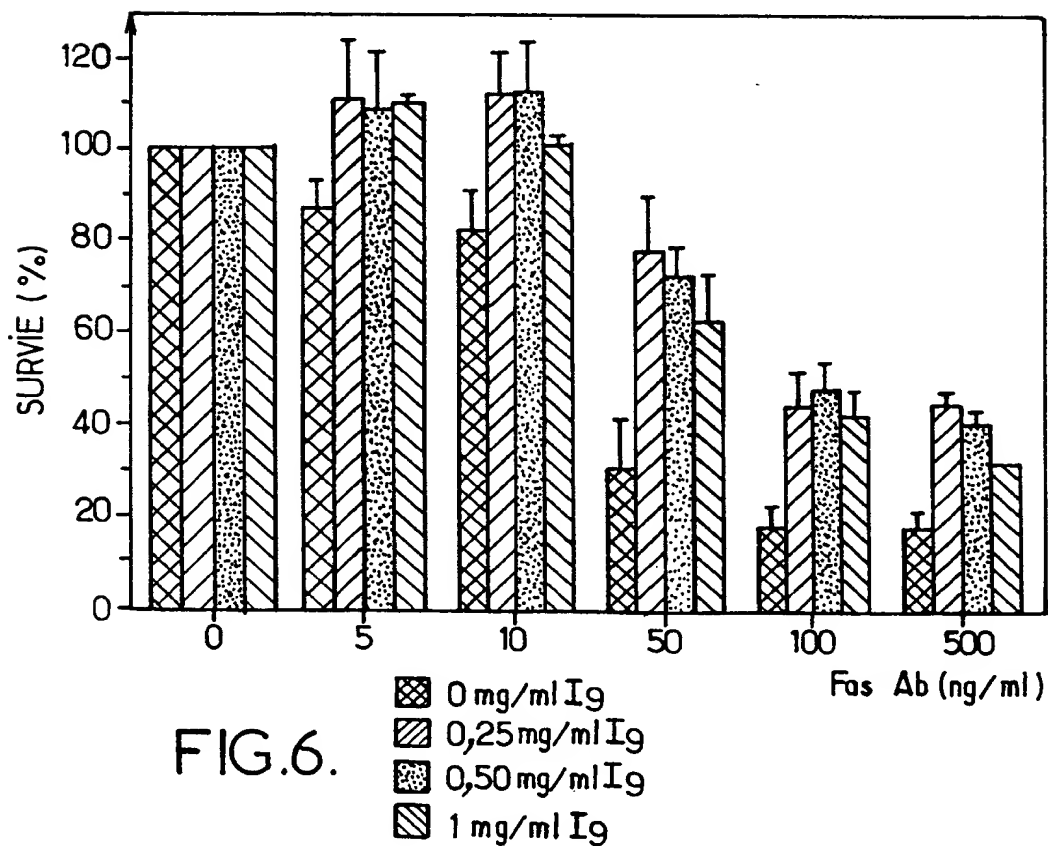
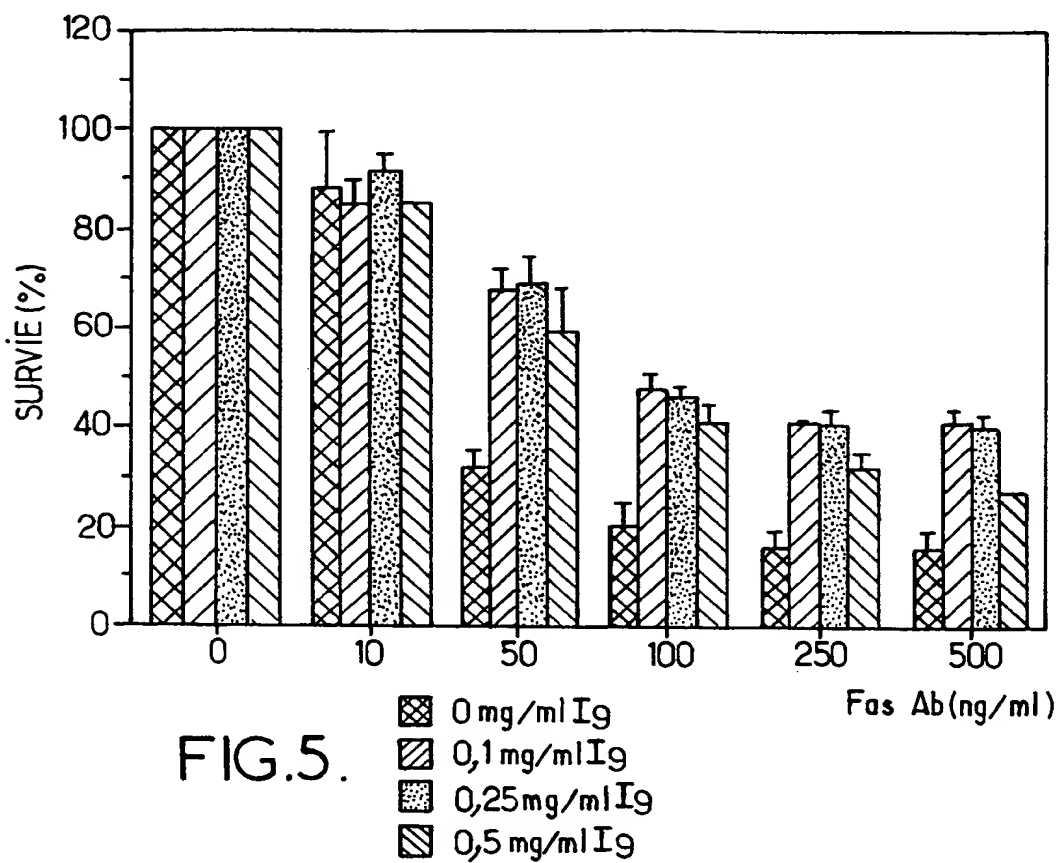
FIG.2.

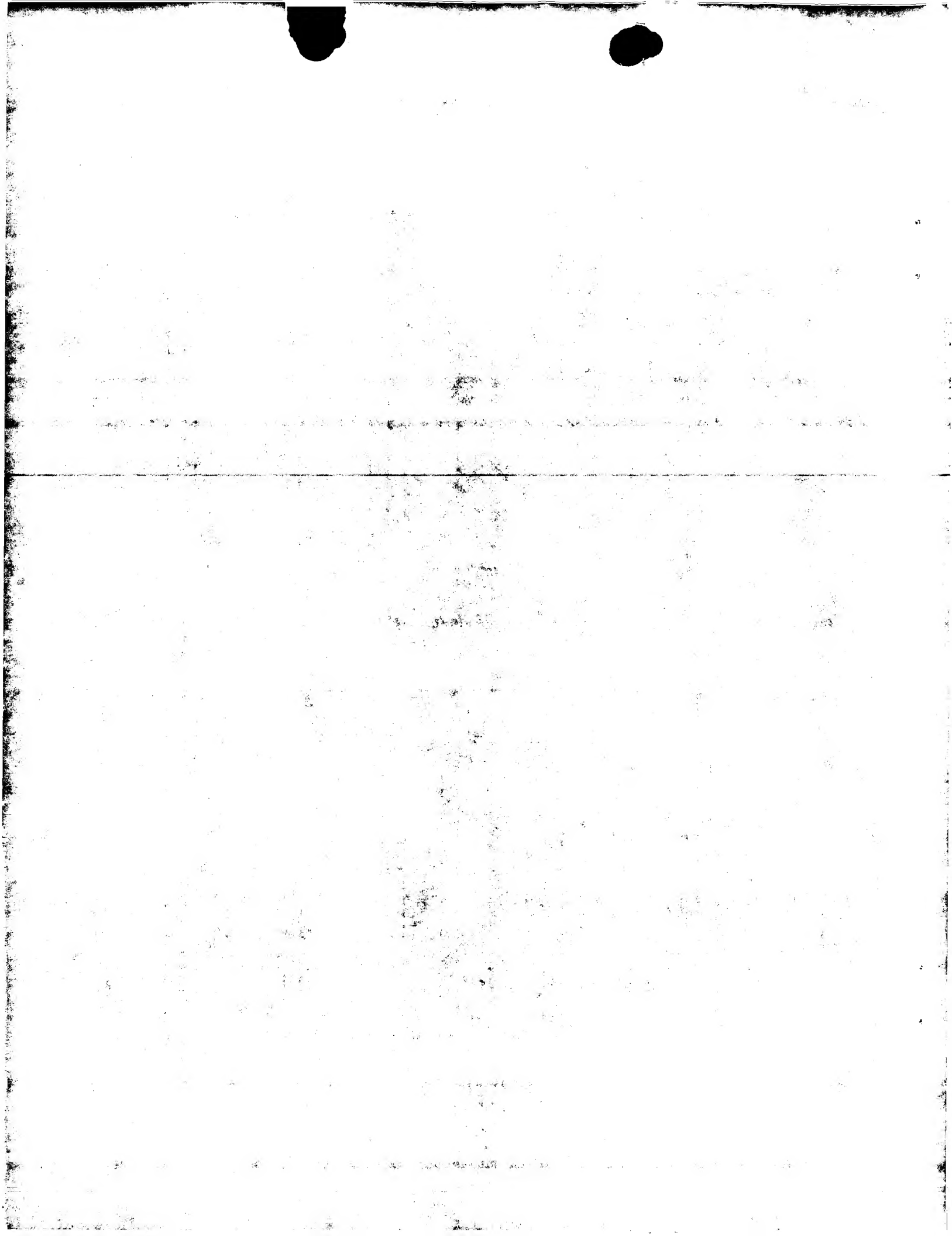
2/8



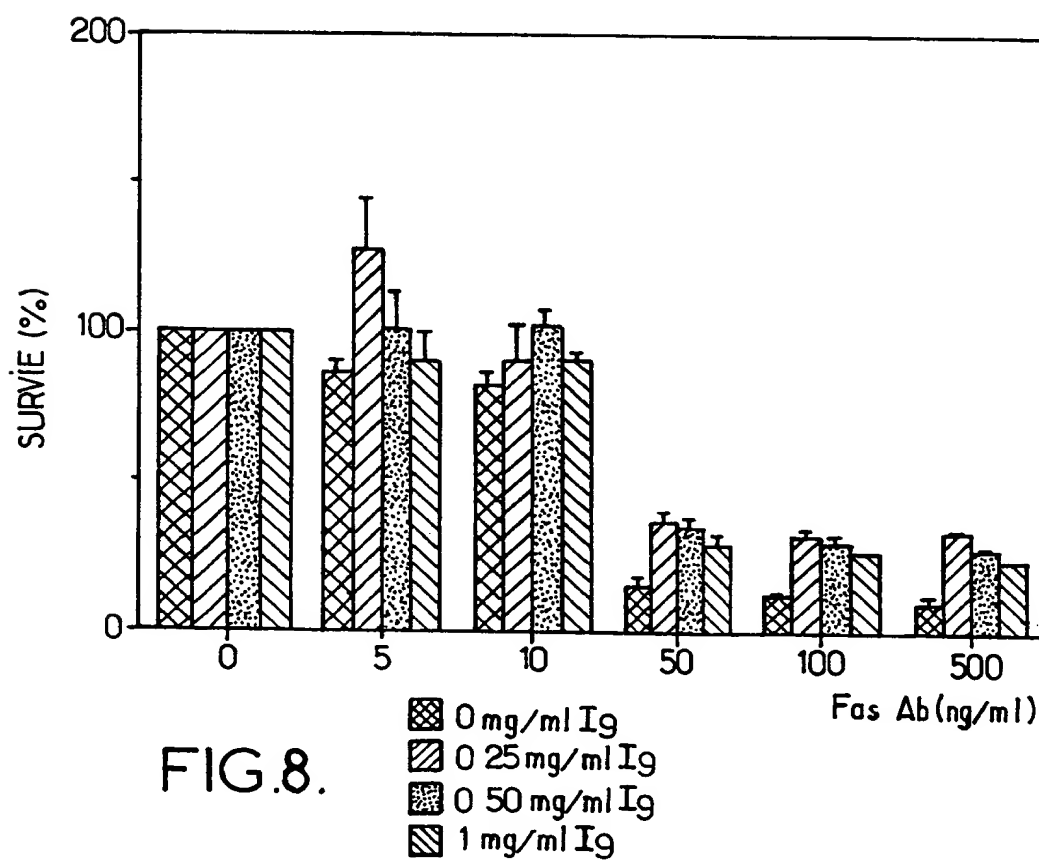
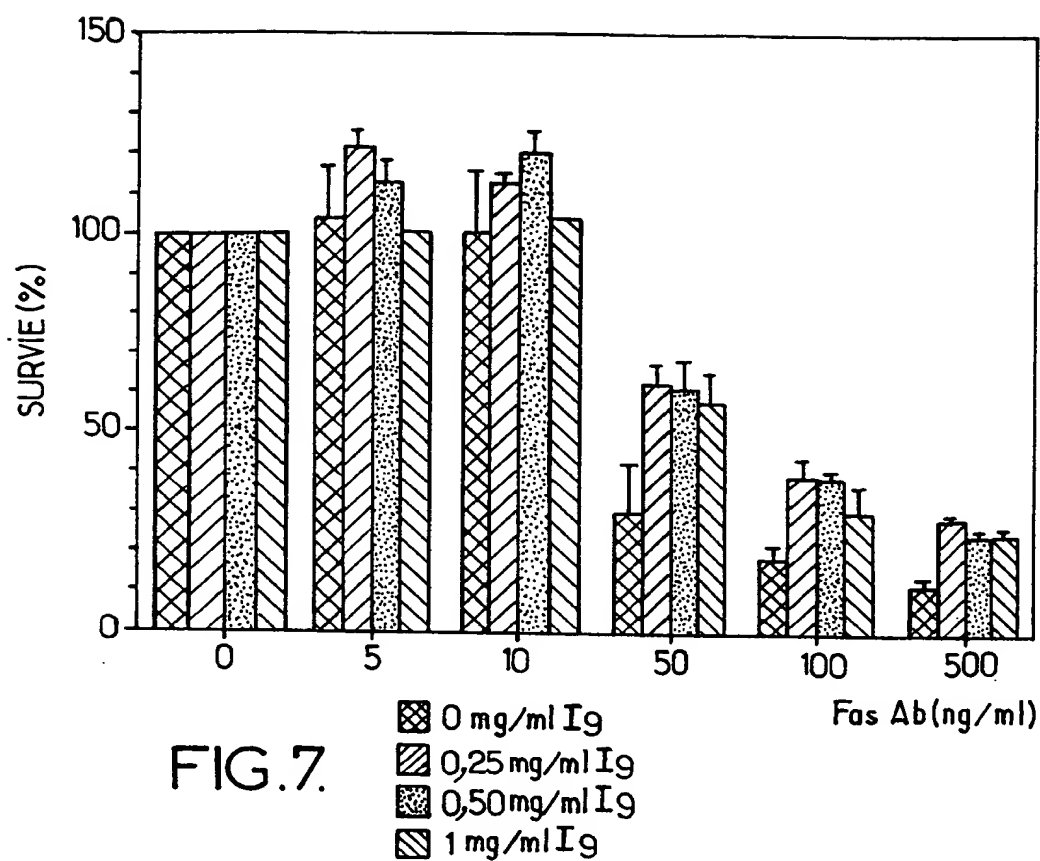


3/8





4/8





5/8

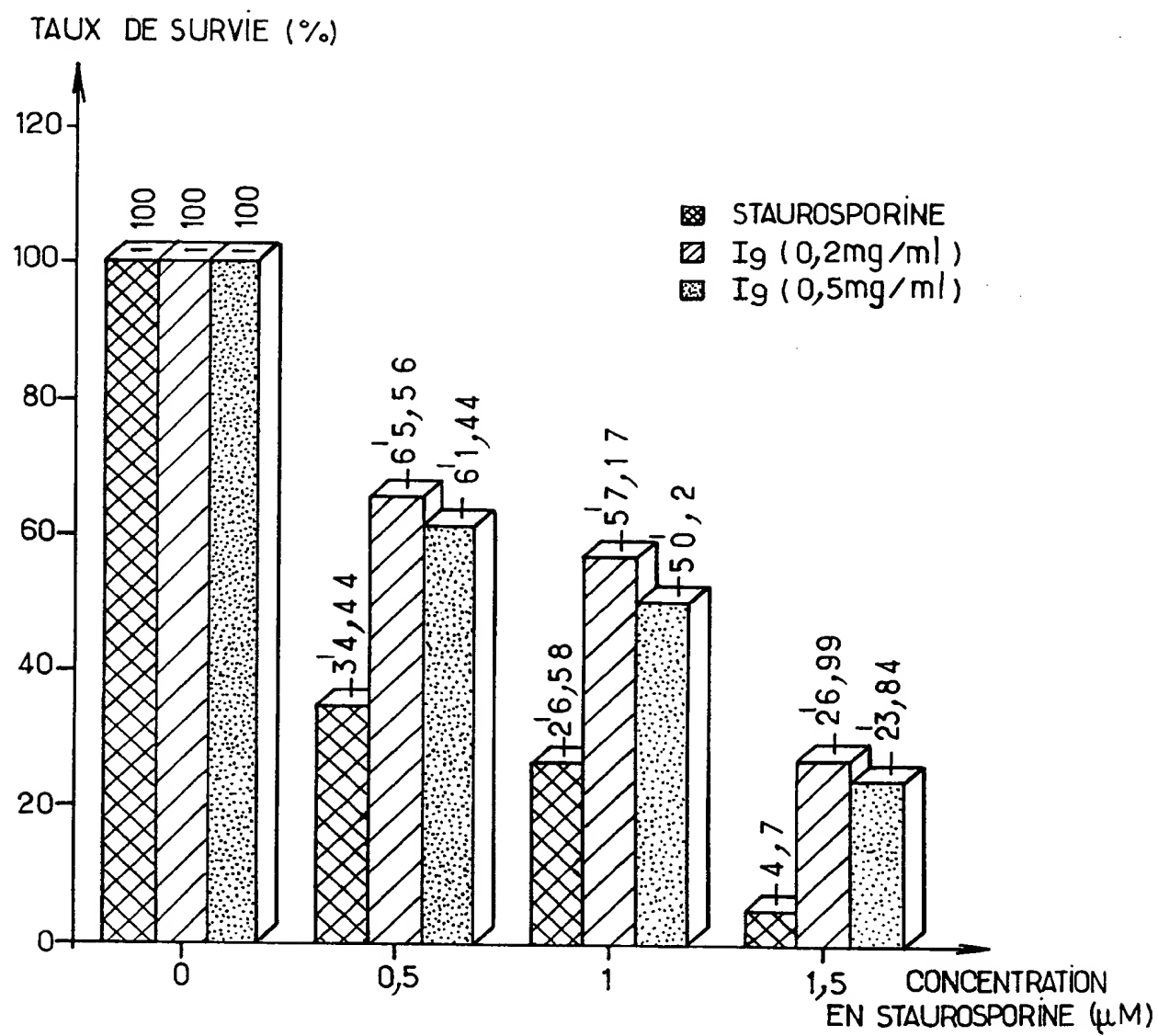


FIG.9.

6/8

FIG.10.

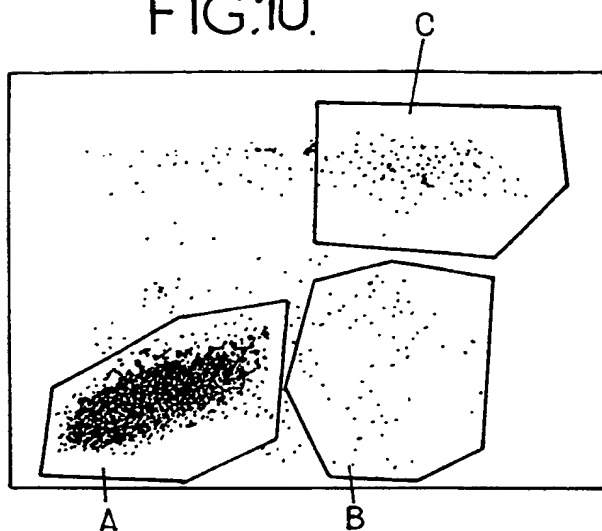


FIG.11.

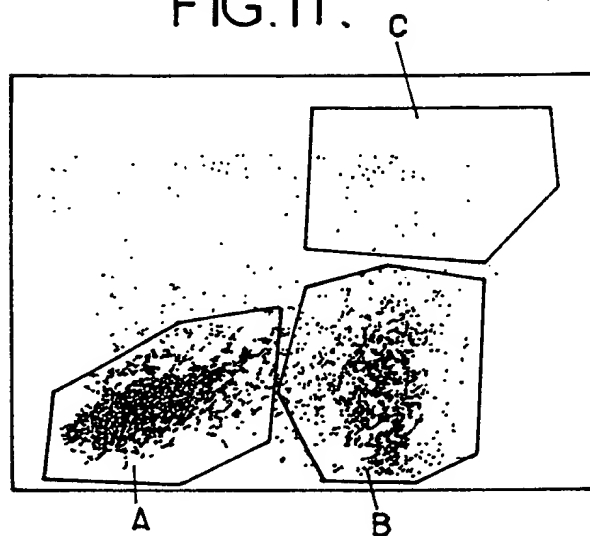


FIG.12.

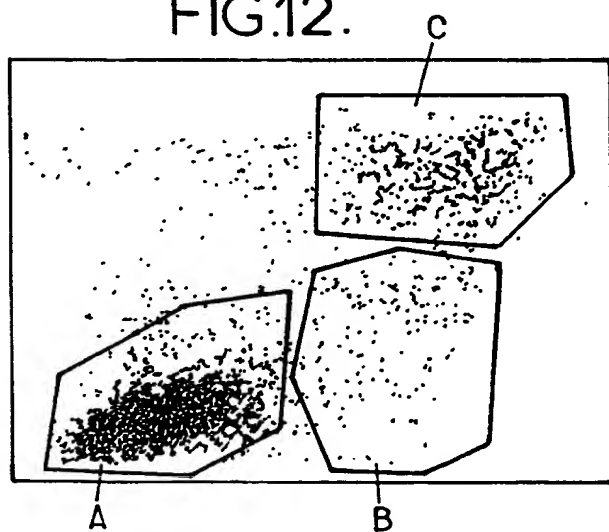
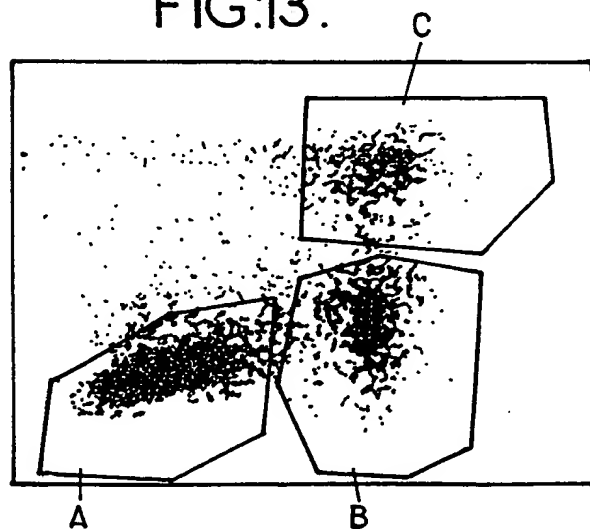
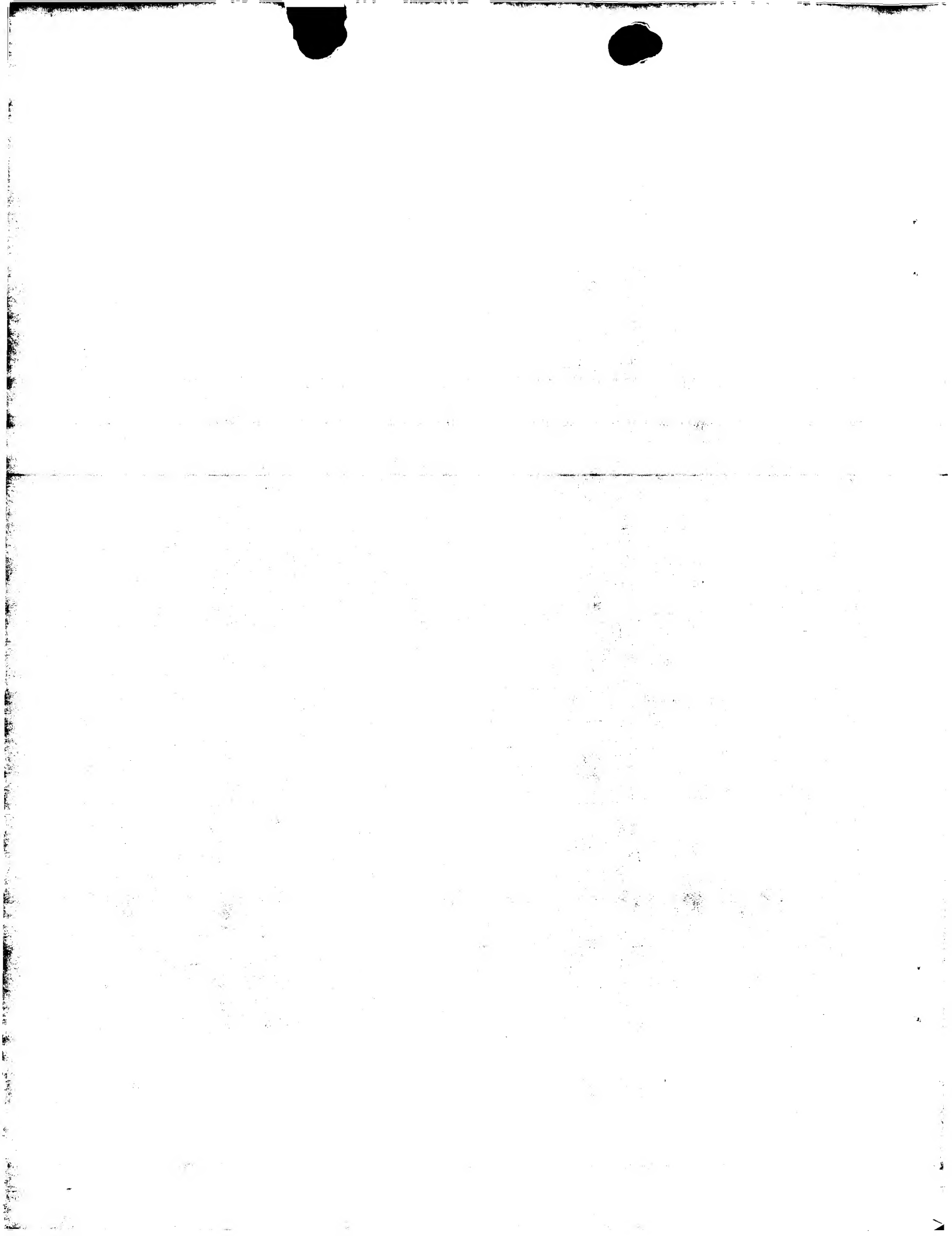
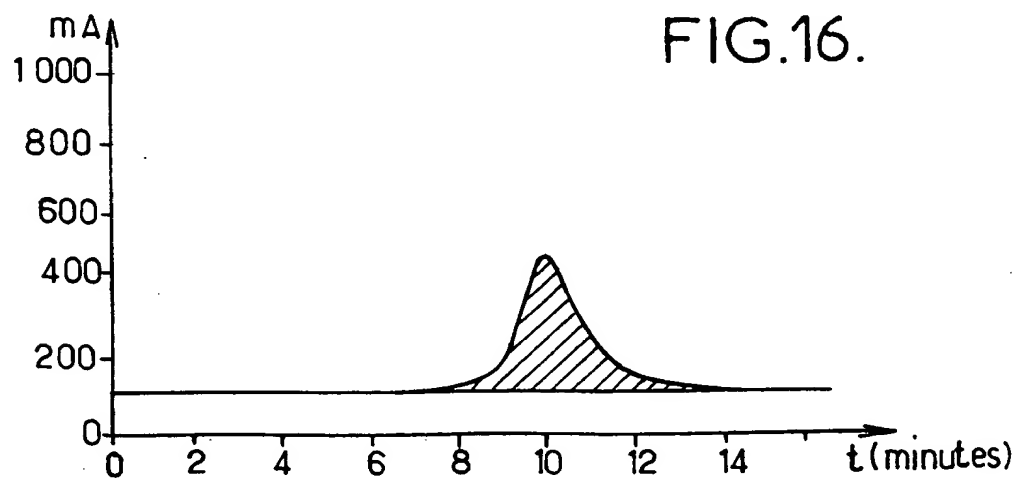
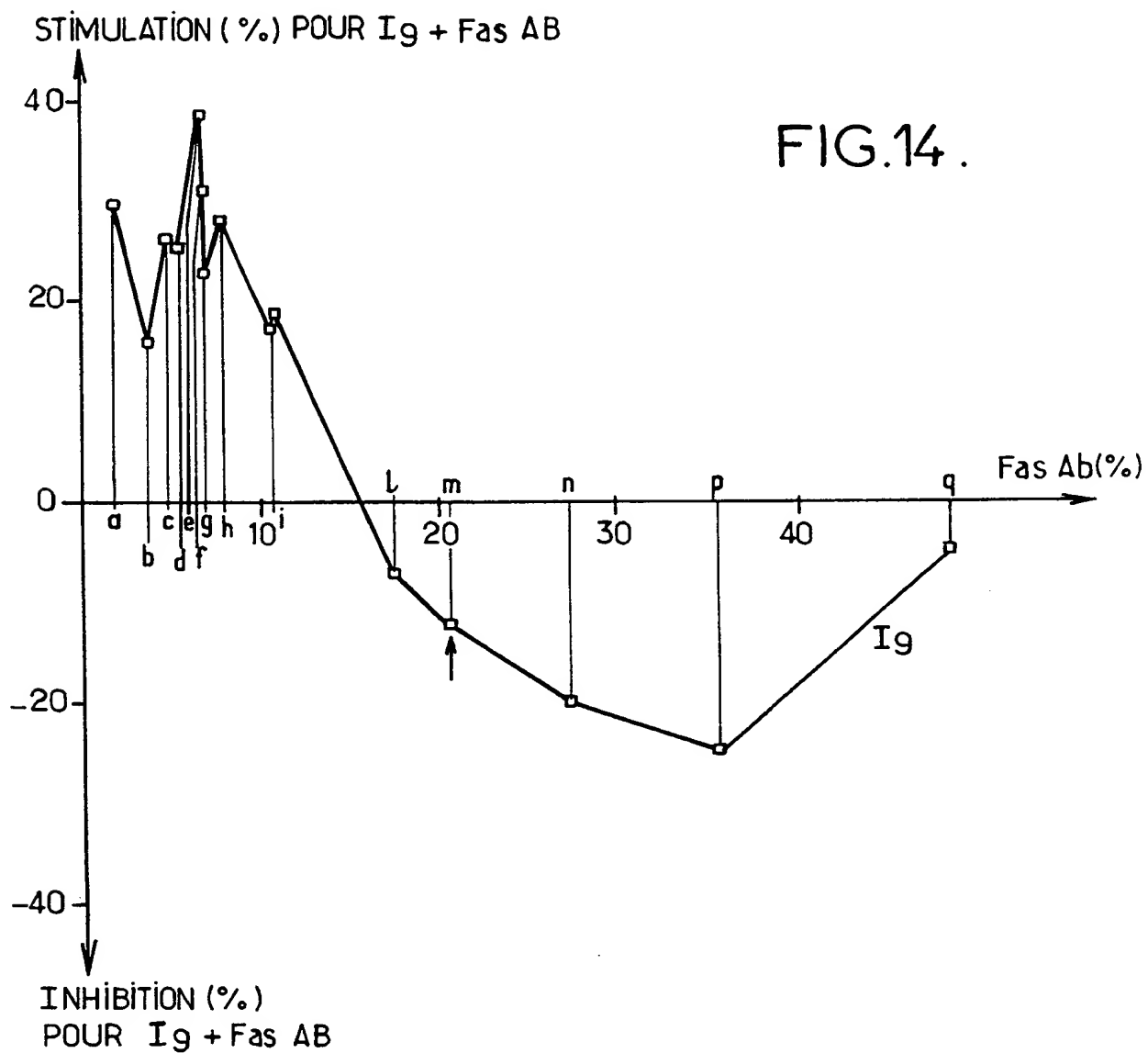


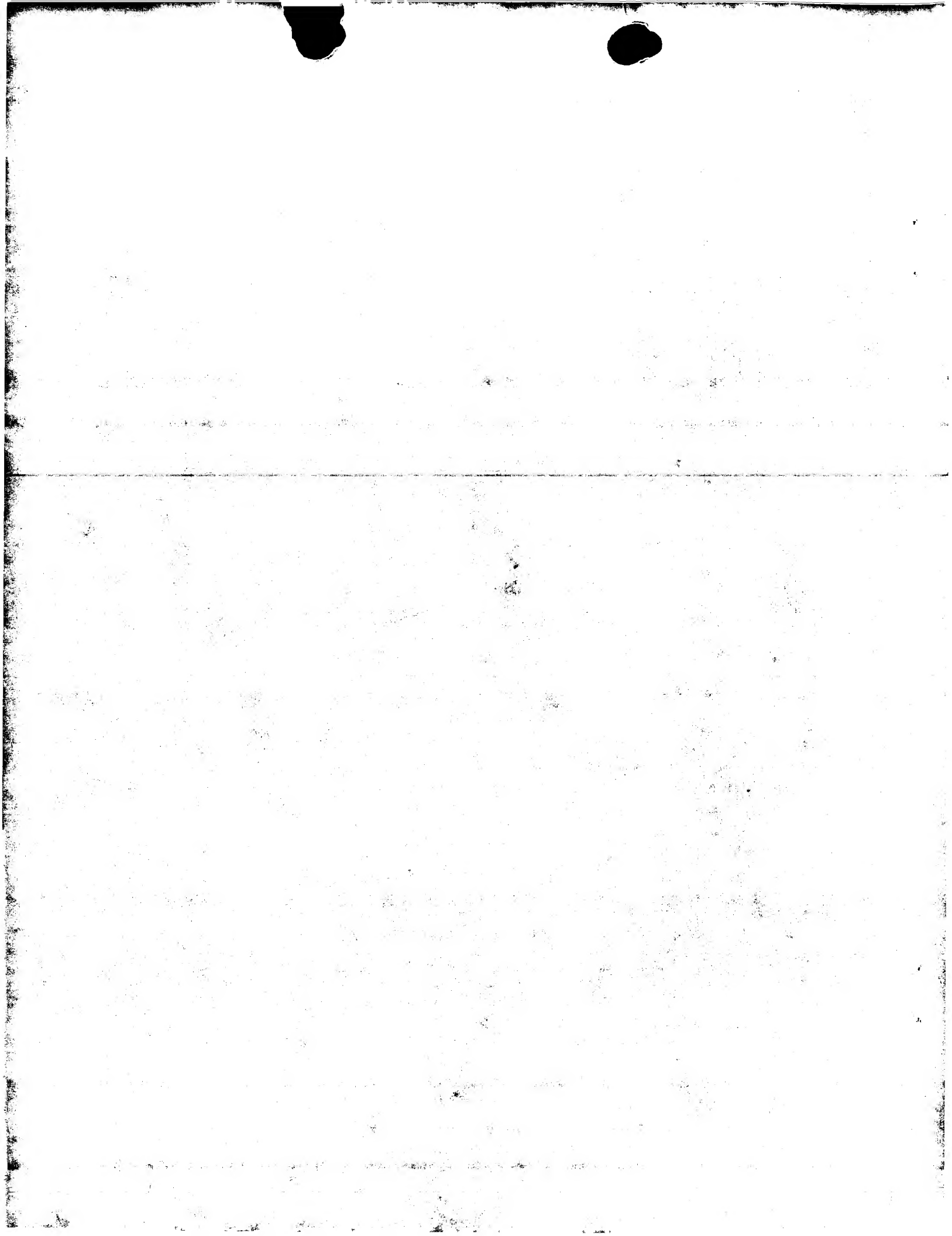
FIG.13.





7/8





8/8

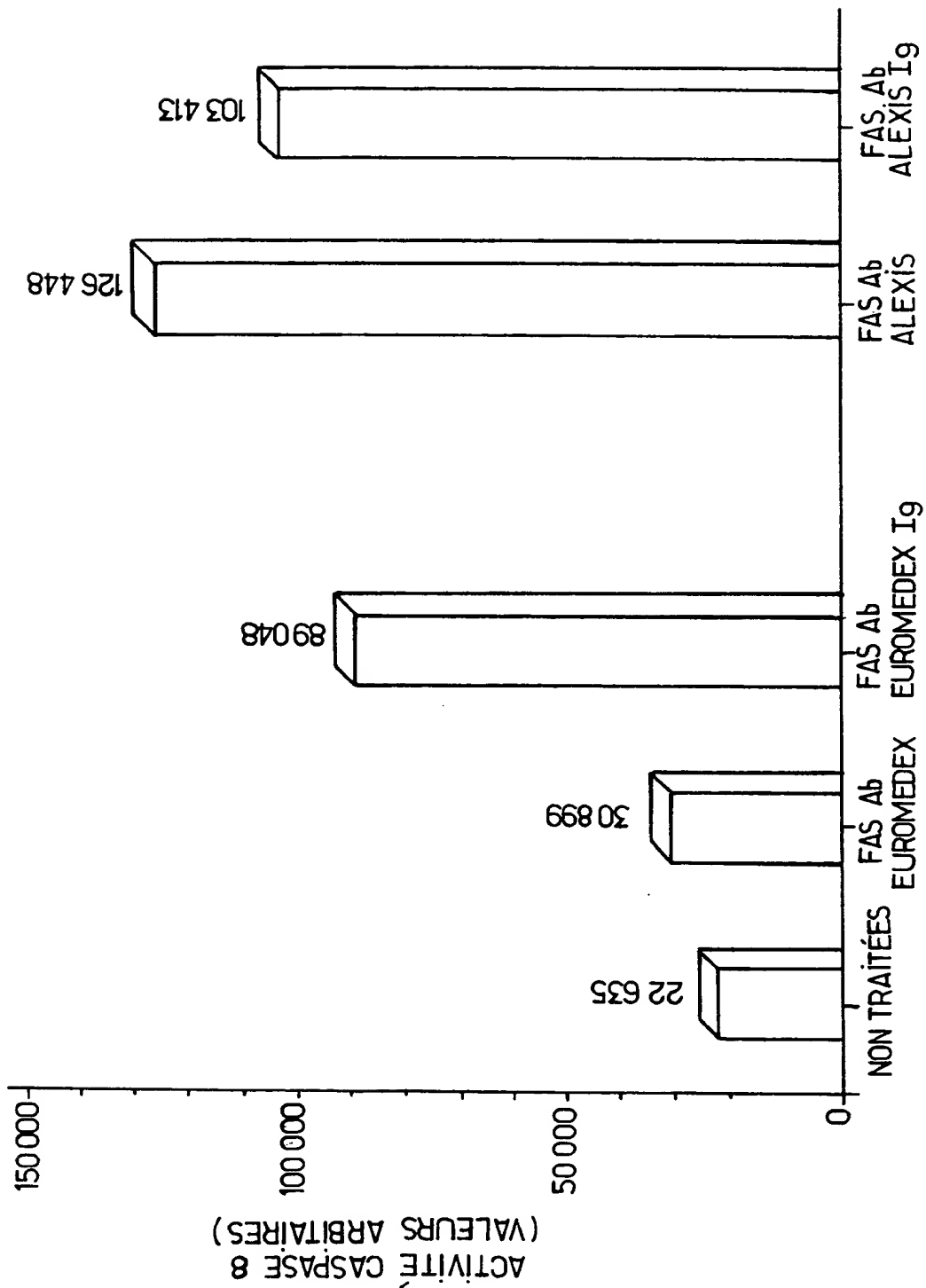
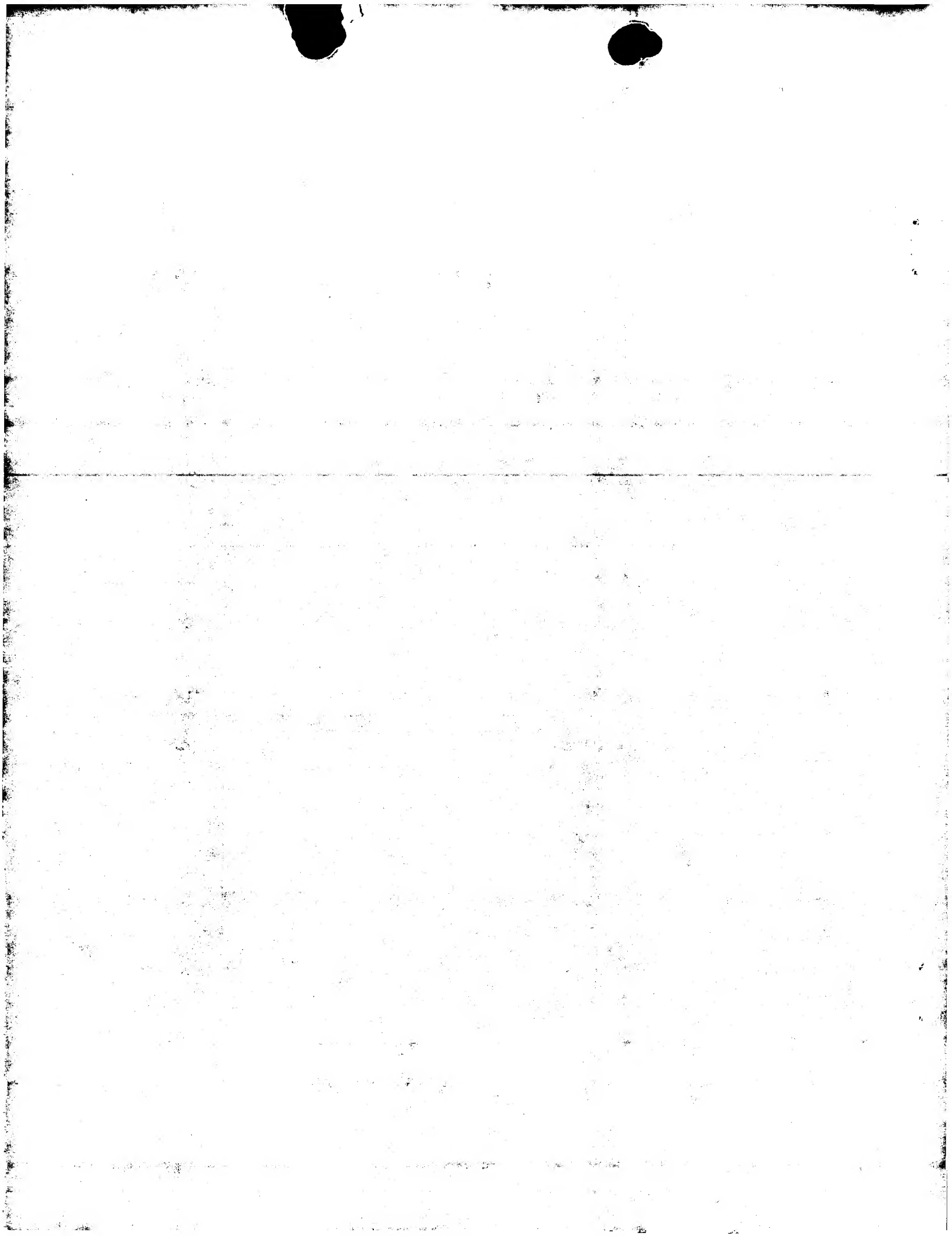


FIG.15.



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/00229

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/70

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 795 560 A (SEIKAGAKU CORP.) 17 September 1997 see claims 21-25 ---	1
A	WO 95 02684 A (LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 26 January 1995 see page 1 - page 5 ---	
A	EP 0 552 373 A (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO.) 28 July 1993 see claims -----	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 March 1999

Date of mailing of the international search report

23/03/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Klaver, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/00229

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 795560	A	17-09-1997	AU 3935695 A CA 2206611 A CN 1174557 A HU 77134 A WO 9616973 A	19-06-1996 06-06-1996 25-02-1998 02-03-1998 06-06-1996
WO 9502684	A	26-01-1995	AU 696991 B AU 7336394 A CA 2167282 A CN 1130401 A EP 0776359 A FI 960165 A HU 73100 A JP 9503645 T PL 312586 A US 5834266 A US 5869337 A AU 690898 B AU 6240394 A EP 0804561 A FI 953812 A JP 8510896 T	24-09-1998 13-02-1995 26-01-1995 04-09-1996 04-06-1997 26-01-1996 28-06-1996 15-04-1997 29-04-1996 10-11-1998 09-02-1999 07-05-1998 29-08-1994 05-11-1997 11-08-1995 19-11-1996
EP 552373	A	28-07-1993	AU 648690 B AU 2231792 A WO 9300902 A JP 2628106 B MX 9203950 A US 5672603 A US 5750529 A US 5543412 A US 5658912 A US 5798358 A US 5872120 A	28-04-1994 11-02-1993 21-01-1993 09-07-1997 01-05-1993 30-09-1997 12-05-1998 06-08-1996 19-08-1997 25-08-1998 16-02-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demar. nternationale No

PCT/FR 99/00229

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 A61K31/70

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 795 560 A (SEIKAGAKU CORP.) 17 septembre 1997 voir revendications 21-25 ---	1
A	WO 95 02684 A (LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY) 26 janvier 1995 voir page 1 - page 5 ---	
A	EP 0 552 373 A (OTSUKA PHARMACEUTICAL CO.) 28 juillet 1993 voir revendications -----	

☐

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

15 mars 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

23/03/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Klaver, T

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Recherche internationale No

PCT/FR 99/00229

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 795560 A	17-09-1997	AU 3935695 A	19-06-1996
		CA 2206611 A	06-06-1996
		CN 1174557 A	25-02-1998
		HU 77134 A	02-03-1998
		WO 9616973 A	06-06-1996
WO 9502684 A	26-01-1995	AU 696991 B	24-09-1998
		AU 7336394 A	13-02-1995
		CA 2167282 A	26-01-1995
		CN 1130401 A	04-09-1996
		EP 0776359 A	04-06-1997
		FI 960165 A	26-01-1996
		HU 73100 A	28-06-1996
		JP 9503645 T	15-04-1997
		PL 312586 A	29-04-1996
		US 5834266 A	10-11-1998
		US 5869337 A	09-02-1999
		AU 690898 B	07-05-1998
		AU 6240394 A	29-08-1994
		EP 0804561 A	05-11-1997
		FI 953812 A	11-08-1995
		JP 8510896 T	19-11-1996
EP 552373 A	28-07-1993	AU 648690 B	28-04-1994
		AU 2231792 A	11-02-1993
		WO 9300902 A	21-01-1993
		JP 2628106 B	09-07-1997
		MX 9203950 A	01-05-1993
		US 5672603 A	30-09-1997
		US 5750529 A	12-05-1998
		US 5543412 A	06-08-1996
		US 5658912 A	19-08-1997
		US 5798358 A	25-08-1998
		US 5872120 A	16-02-1999

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

PCT International Application No. : PCT/FR99/00229

VERIFICATION OF A TRANSLATION

I, the below named translator, hereby declare that:

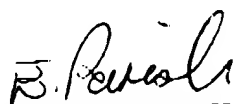
My name and post office address are as stated below;

That I am knowledgeable in the French language in which the below identified international application was filed, and that, to the best of my knowledge and belief, the English translation of the amended sheets of the international application No. PCT/FR99/00229 is a true and complete translation of the amended sheets of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application issued thereon.

Date: 31 July 2000

Full name of the translator :


Elaine Patricia PARRISH
For and on behalf of RWS Group plc

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.



CLAIMS

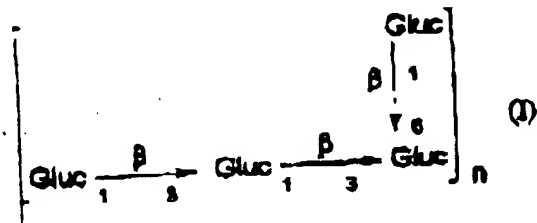
NOT
ENTERED

1. Medicine, characterized in that it comprises, as
an active principle, an effective amount of at least one
oligosaccharide substance which is capable of modifying
apoptosis dysfunctions and which optionally comprises, on
at least some of its individual units, at least one
substituent of the group comprising sulfate, methyl and
acetyl groups, said substance being chosen from the group
comprising :

- the oligosaccharides which are derived, by
enzymatic or chemical process, from the polymers of the
group comprising (1→3)-β-glucans which optionally
comprise (1→6)-β- branching, and

- the oligosaccharides which are derived, by
enzymatic or chemical process, from carrageenans, from
agars and from porphyrans.

2. Medicine, characterized in that it comprises, as
an active principle, an effective amount of at least one
oligosaccharide which is capable of modifying apoptosis
dysfunctions and which satisfies the formula :

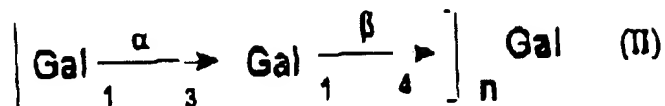


in which n represents an integer from 1 to 50, preferably
from 5 to 10, and in which the number of branches varies
from 0 to 3 per repeat unit.

3. Medicine, characterized in that it comprises, as
an active principle, an effective amount of at least one



repeat disaccharide which is capable of modifying apoptosis dysfunctions and which satisfies the formula :



6. Medicine, characterized in that it comprises, as an active principle, an effective amount of the product which is capable of activating apoptosis dysfunctions and which consists of fraction DP 7 of the product I, according to Claim 4.

7. Method for preparing a medicine for treating apoptosis dysfunctions, characterized in that a pharmaceutical composition comprises at least one of the active principles of the medicines according to at least one of Claims 1 to 6.

8. Use, with a view to preparing a medicine for treating apoptosis dysfunctions, of at least one of the oligosaccharide substances which optionally comprise, on at least some of their individual units, at least one substituent of the group comprising sulfate, methyl and acetyl groups, said substances which are capable of modifying apoptosis dysfunctions being chosen from the group comprising :

- the oligosaccharides which are derived, by enzymatic or chemical process, from the polymers of the group comprising (1→3)-β-glucans which optionally comprise (1→6)-β- branching, and

- the oligosaccharides which are derived, by enzymatic or chemical process, from carrageenans, from agars and from porphyrans.

9. Use, with a view to preparing a medicine for treating apoptosis dysfunctions, of the oligosaccharides



of formula (I) and of those of formula (II).

10. Use of the products which are referred to as I₉ and L₁₁ and of the product constituting fraction DP 7 of the product I₉ according to Claim 4 with a view to preparing medicines for treating apoptosis dysfunctions.



TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année)

22 octobre 1999 (22.10.99)

Demande internationale no

PCT/FR99/00229

Référence du dossier du déposant ou du mandataire

BCT990010/GK

Date du dépôt international (jour/mois/année)

03 février 1999 (03.02.99)

Date de priorité (jour/mois/année)

03 février 1998 (03.02.98)

Déposant

YVIN, Jean-Claude etc

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

26 août 1999 (26.08.99)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

Diana Nissen

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 10 MAY 2000

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



17

Référence du dossier du déposant ou du mandataire BCT990010/GK	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR99/00229	Date du dépôt international (jour/mois/année) 03/02/1999	Date de priorité (jour/mois/année) 03/02/1998
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A61K31/70		
Déposant LABORATOIRES GOEMAR S.A. et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 2 feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:
 - I ☒ Base du rapport
 - II ☐ Priorité
 - III ☒ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
 - IV ☐ Absence d'unité de l'invention
 - V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
 - VI ☐ Certains documents cités
 - VII ☒ Irrégularités dans la demande internationale
 - VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 26/08/1999	Date d'achèvement du présent rapport 09.05.00
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Uiber, P N° de téléphone +49 89 2399 8474 

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/00229

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

Description, pages:

1-25 version initiale

Revendications, N°:

1-10 reçue(s) le 29/03/2000 avec la lettre du 27/03/2000

Dessins, feuilles:

1/8-8/8 version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
☐ des revendications, n°s :
☐ des dessins, feuilles :

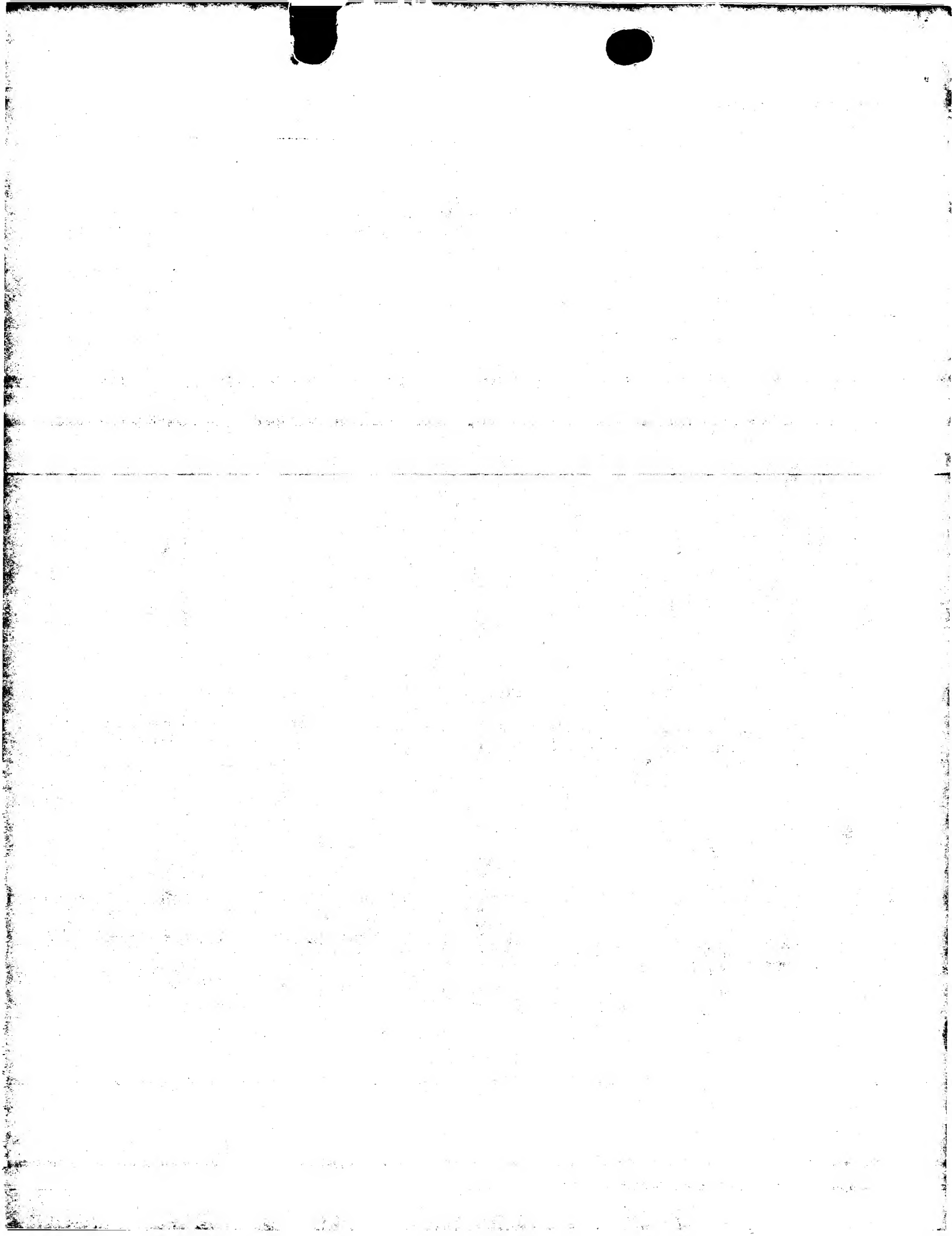
3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

- ☐ l'ensemble de la demande internationale.
☒ les revendications n°s 1-6 et 8-10.



**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/00229

parce que :

- ☒ la demande internationale, ou les revendications n°s 1-6 et 8-10 en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :

voir feuille séparée

- ☐ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :

- ☐ les revendications, ou les revendications n°s en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.

- ☐ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s en question.

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-10 Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 1-10 Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications cf. feuille séparée Non : Revendications

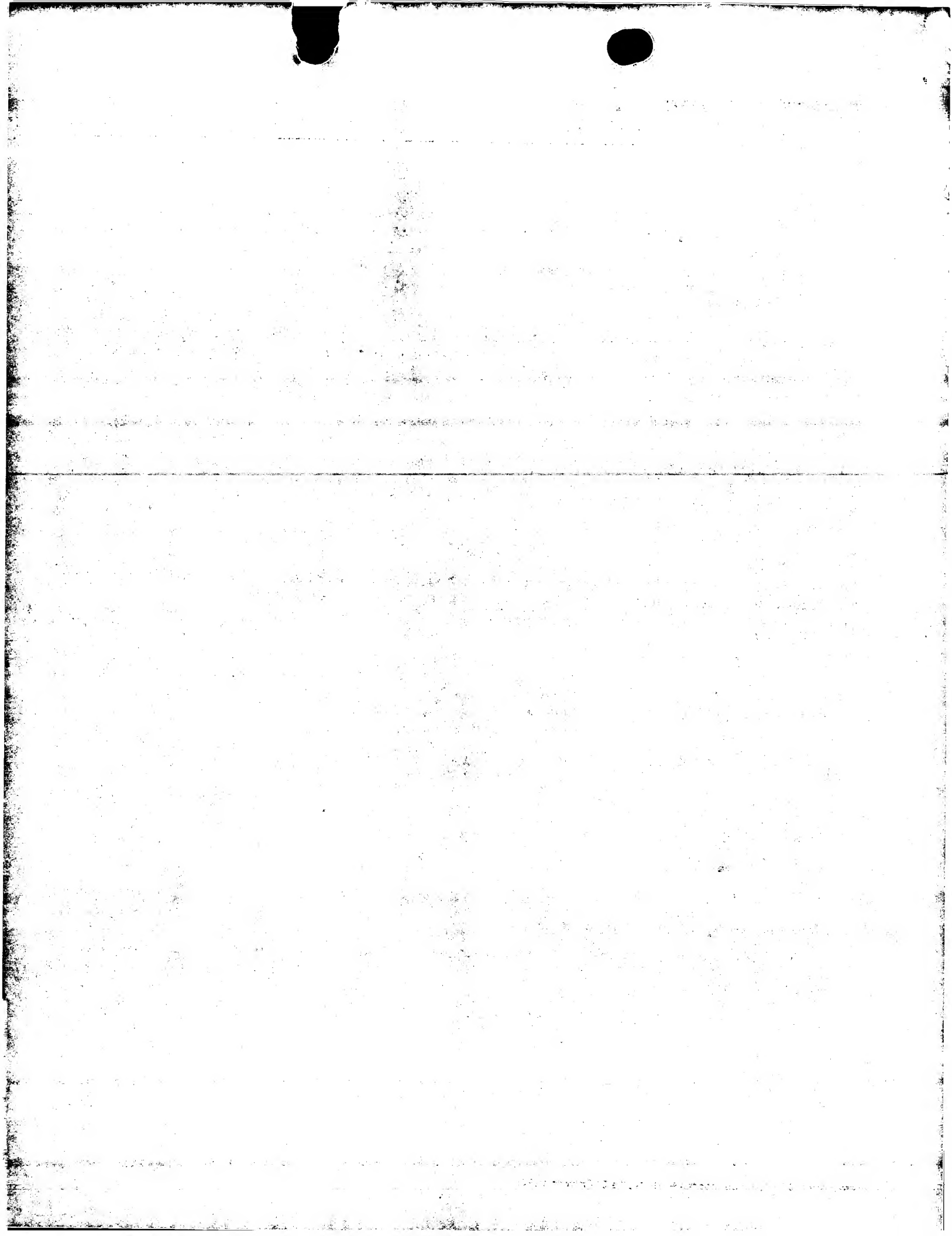
2. Citations et explications

voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

voir feuille séparée



**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/00229

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

voir feuille séparée

SECTION III

- 1). La présente Administration considère que l'objet des revendications 1-6 et 8-10 est visé par les dispositions de la règle 67.1 (iv) PCT. C'est pourquoi il ne sera pas émis d'opinion quant à la question de savoir si l'objet de ces revendications est susceptible d'application industrielle (article 34(4) a) i) PCT).

SECTION V

- 2). Il n'existe pas de critère unifié dans les Etats parties au PCT pour déterminer si les revendications 1-6 et 8-10 sont susceptibles d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, peuvent être acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.
- 3). Il est fait référence aux documents suivants:
D1: EP-A-0 795 560
D2: WO 95 02684
D3: EP-A-0 552 373
Les passages cités pour chaque document D1-D3 du rapport de recherche sont considérés sauf indication contraire.
- 4). a) Aucun des dérivés selon les revendications 1-5 ou leur utilisation selon les revendications 6-10 ne sont décrits dans l'art antérieur disponible D1-D3 (Art. 33(3) PCT).
D1 décrit des oligosaccharides dérivés de polymères du groupe comprenant des galactanes sulfatés et leur utilisation dans la fabrication de médicaments destinés au traitement de l'apoptose. De tels dérivés ne sont plus compris dans les nouvelles revendications



Les documents D2 et D3 ne concernent pas des oligosaccharides. La revendication 3 vise des oligosaccharides Gal α 1-3 Gal [SPEC0803] 1-4 qui ne sont pas décrits par D1.

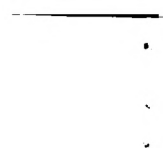
- 5). A la différence des dérivés galactanes sulfatés selon D1, le Demandeur a constaté que ses dérivés pouvaient, soit stimuler l'apoptose dans le cas de cellules déficientes soit inhiber l'apoptose dans le cas de cellules suractives (cf. p.21-22 de la demande). En d'autres termes, les dérivés revendiqués présentent une activité modulatrice de l'apoptose qui n'est ni mentionnée ni suggérée dans le document D1 qui ne fait état que d'une activité stimulante (apoptosis inducer). L'objet des revendications 1-10 implique une activité inventive (Art. 33(3) PCT).

SECTION VII

- 6). Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé par D1 et ne le cite pas.

SECTION VIII

- 7). La description n'a pas été adaptée aux nouvelles revendications (Art. 6 PCT).



REVENDICATIONS

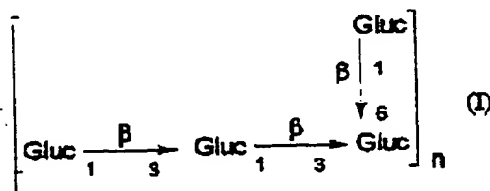
1. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins une substance oligosaccharidique propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et comportant éventuellement, sur au moins certains de ses motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, la substance étant choisie dans le groupe comprenant

10 - les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et

15 - les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des carraghénanes, des agars et des porphyranes.

2. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un oligosaccharide propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et répondant à la formule

25



dans laquelle n représente un nombre entier de 1 à 50, de préférence de 5 à 10 et dans laquelle le nombre de branchements varie de 0 à 3 par unité de répétition.

3. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un disaccharide de répétition propre à moduler les dérèglements de l'apoptose et répondant à la formule

AMENDED SHEET



figure 1.

6. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à activer les dérèglements de l'apoptose et constitué par la fraction DP 7 du produit I, selon la revendication 4.

7. Procédé de préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, caractérisé par le fait que l'on fait comporter à une composition galénique au moins l'un des principes actifs des médicaments selon au moins l'une des revendications 1 à 6.

8. Utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, d'au moins l'une des substances oligosaccharidiques comportant éventuellement, sur au moins certains de leurs motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, lesdites substances qui sont propres à moduler les dérèglements de l'apoptose étant choisies dans le groupe comprenant

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et
- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des carraghénanes, des agars et des porphyranes.

9. Utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, des oligosaccharides de formule (I) et de ceux de formule (II).

10. Utilisation des produits désignés par I, et L₁ et du produit constituant la fraction DP 7 du produit I, selon la revendication 4 en vue de la préparation de médicaments pour le traitement des dérèglements de l'apoptose.

09601688

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

10

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference BCT990010/GK	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR99/00229	International filing date (day/month/year) 03 February 1999 (03.02.99)	Priority date (day/month/year) 03 February 1998 (03.02.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/70		
Applicant LABORATOIRES GOEMAR S.A.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 2 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 26 August 1999 (26.08.99)	Date of completion of this report 09 May 2000 (09.05.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/00229

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-25, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. 1-10, filed with the letter of 27 March 2000 (27.03.2000),
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/8-8/8, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/00229

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 1-6 and 8-10

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 1-6 and 8-10
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See the Supplemental Box.

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

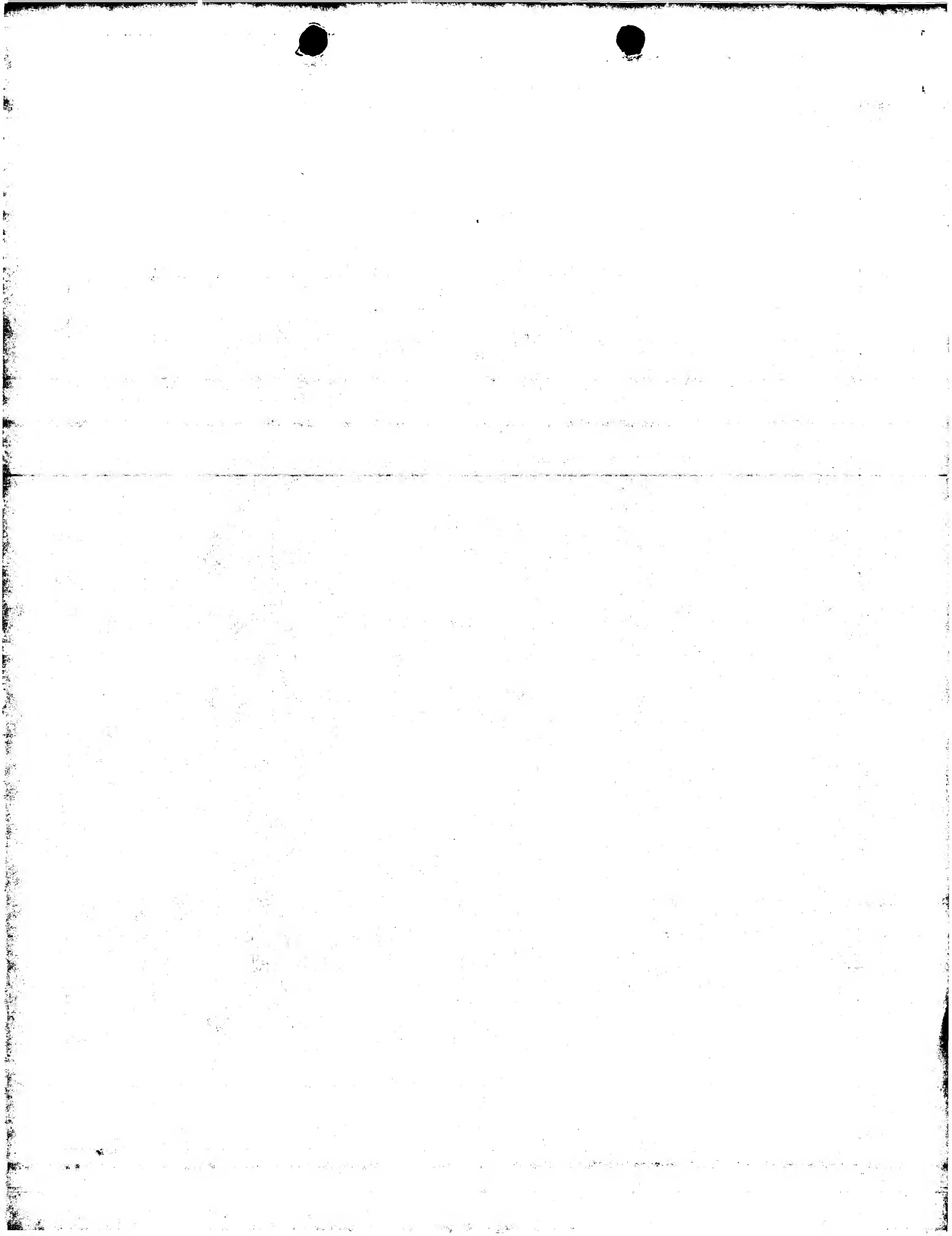
International application No.
PCT/FR 99/00229

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III.

The present Authority considers that the subject matter of Claims 1-6 and 8-10 is subject to the provisions of PCT Rule 67.1(iv). It is for this reason that no opinion shall be given as to whether or not the subject matter of said claims is industrially applicable (PCT Article 34(4)(a)(i)).



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 99/00229**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	see Boxes III and V	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1. There are no uniform criteria in the PCT Contracting States to determine whether Claims 1-6 and 8-10 are industrially applicable. The patentability may also depend on the way in which the claims have been formulated. Thus the European Patent Office does not consider the subject matter of claims concerning the use of a compound for medical purposes to be industrially applicable. On the other hand, the following may be accepted: claims relating to a known compound for first-time use for medical purposes and claims relating to the use of such a compound in manufacturing a drug with a view to a new medical treatment.

2. Reference is made to the following documents:

D1: EP-A-0 795 560

D2: WO 95 02684

D3: EP-A-0 552 373

Unless otherwise specified, the passages of D1-D3 considered in the present report are those cited in the international search report.

3. None of the derivatives according to Claims 1-5 or their use according to Claims 6-10 is described in

the available prior art (D1-D3) (PCT Article 33(3)). D1 describes oligosaccharides derived from polymers of the group comprising sulphated galactans and the use thereof for manufacturing drugs for treating apoptosis. Such derivatives are no longer included in the new claims.

D1 and D2 do not concern oligosaccharides. Claim 3 concerns Gal α 1-3 Gal [SPEC0803] 1-4 oligosaccharides which are not described in D1.

4. In contrast to the sulphated galactan derivatives of D1, the applicants have observed that their derivatives could either induce apoptosis in the case of deficient cells or inhibit apoptosis in the case of overactive cells (cf. pages 21-22 of the present application). In other words, the claimed derivatives have an apoptosis-modulating activity which is neither indicated nor suggested in D1, which merely describes an inducing activity (apoptosis inducer).

The subject matter of Claims 1-10 involves an inventive step (PCT Article 33(3)).



•

•

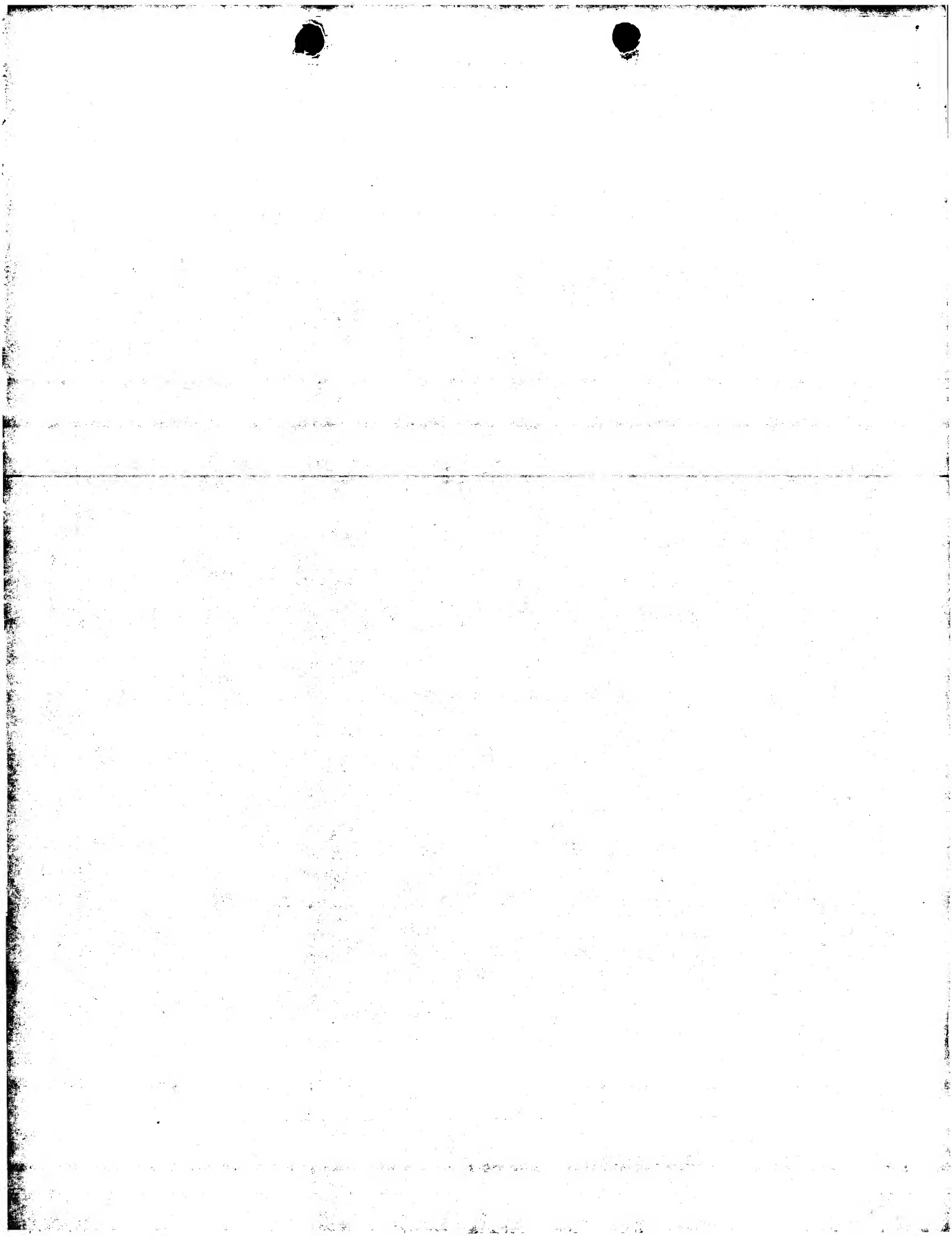
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 99/00229

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description neither discloses the relevant prior art disclosed in D1, nor does it cite this document.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

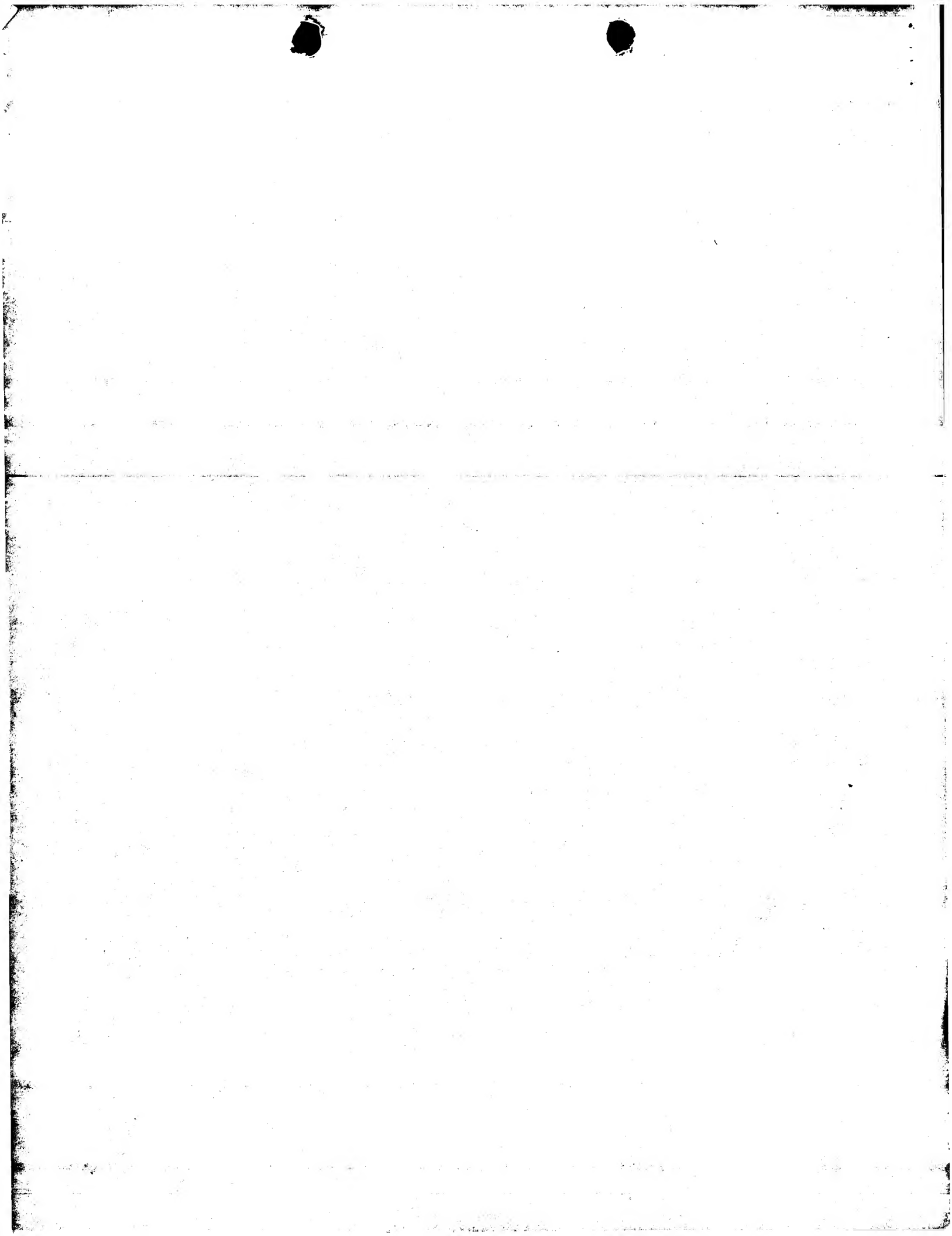
International application No.

PCT/FR 99/00229

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The description has not been brought into line with the new claims (PCT Article 6).



Expéditeur: L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE
L'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Destinataire:

KOCH, Gustave
CABINET PLASSERAUD
84, rue d'Amsterdam
F-75440 PARIS Cedex 09
FRANCE

RECU

PCT

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU
RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE
INTERNATIONAL
(règle 71.1 du PCT)

Date d'expédition
(jour/mois/année)

09.05.00

Référence du dossier du déposant ou du mandataire
BCT990010/GK

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale No.
PCT/FR99/00229

Date du dépôt international (jour/mois/année)
03/02/1999

Date de priorité (jour/mois/année)
03/02/1998

Déposant

LABORATOIRES GOEMAR S.A. et al.

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ces annexes.

2. Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes est transmise au Bureau international pour communication à tous les offices élus.

3. Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau international établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.

4. RAPPEL

Pour aborder la phase nationale auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau international dans le formulaire PCT/IB/301).

Lorsqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen
préliminaire international



Office européen des brevets
D-80298 Munich
Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Fonctionnaire autorisé

Oberhauser, A

Tél. +49 89 2399-8139



TRAITÉ DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



Référence du dossier du déposant ou du mandataire BCT990010/GK	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR99/00229	Date du dépôt international (jour/mois/année) 03/02/1999	Date de priorité (jour/mois/année) 03/02/1998
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB A61K31/70		
Déposant LABORATOIRES GOEMAR S.A. et al.		

- Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
- Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 2 feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☒ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☒ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 26/08/1999	Date d'achèvement du présent rapport 09.05.00
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Uiber, P N° de téléphone +49 89 2399 8474 

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/00229

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

Description, pages:

1-25 version initiale

Revendications, N°:

1-10 reçue(s) le 29/03/2000 avec la lettre du 27/03/2000

Dessins, feuilles:

1/8-8/8 version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

- ☐ l'ensemble de la demande internationale.
- ☒ les revendications n°s 1-6 et 8-10.

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/00229

parce que :

- ☒ la demande internationale, ou les revendications n°s 1-6 et 8-10 en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue d'effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :

voir feuille séparée

- ☐ la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :

- ☐ les revendications, ou les revendications n°s en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.

- ☐ il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s en question.

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-10
	Non : Revendications
Activité inventive	Oui : Revendications 1-10
	Non : Revendications
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications cf. feuille séparée
	Non : Revendications

2. Citations et explications

voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

voir feuille séparée

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/00229

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

voir feuille séparée

SECTION III

- 1). La présente Administration considère que l'objet des revendications 1-6 et 8-10 est visé par les dispositions de la règle 67.1 (iv) PCT. C'est pourquoi il ne sera pas émis d'opinion quant à la question de savoir si l'objet de ces revendications est susceptible d'application industrielle (article 34(4) a) i) PCT).

SECTION V

- 2). Il n'existe pas de critère unifié dans les Etats parties au PCT pour déterminer si les revendications 1-6 et 8-10 sont susceptibles d'application industrielle. La brevetabilité peut aussi dépendre de la manière dont les revendications ont été formulées. Ainsi, l'Office européen des brevets ne considère pas comme susceptible d'application industrielle l'objet de revendications d'utilisation d'un composé à des fins médicales. Par contre, peuvent être acceptées des revendications relatives à un composé connu, pour une première utilisation à des fins médicales ainsi que des revendications relatives à l'utilisation d'un tel composé dans la fabrication d'un médicament en vue d'un nouveau traitement médical.

- 3). Il est fait référence aux documents suivants:

D1: EP-A-0 795 560

D2: WO 95 02684

D3: EP-A-0 552 373

Les passages cités pour chaque document D1-D3 du rapport de recherche sont considérés sauf indication contraire.

- 4). a) Aucun des dérivés selon les revendications 1-5 ou leur utilisation selon les revendications 6-10 ne sont décrits dans l'art antérieur disponible D1-D3 (Art. 33(3) PCT).

D1 décrit des oligosaccharides dérivés de polymères du groupe comprenant des galactanes sulfatés et leur utilisation dans la fabrication de médicaments destinés au traitement de l'apoptose. De tels dérivés ne sont plus compris dans les nouvelles revendications

Les documents D2 et D3 ne concernent pas des oligosaccharides. La revendication 3 vise des oligosaccharides Gal α 1-3 Gal [SPEC0803] 1-4 qui ne sont pas décrits par D1.

- 5). A la différence des dérivés galactanes sulfatés selon D1, le Demandeur a constaté que ses dérivés pouvaient, soit stimuler l'apoptose dans le cas de cellules déficientes soit inhiber l'apoptose dans le cas de cellules suractives (cf. p.21-22 de la demande). En d'autres termes, les dérivés revendiqués présentent une activité modulatrice de l'apoptose qui n'est ni mentionnée ni suggérée dans le document D1 qui ne fait état que d'une activité stimulante (apoptosis inducer). L'objet des revendications 1-10 implique une activité inventive (Art. 33(3) PCT).

SECTION VII

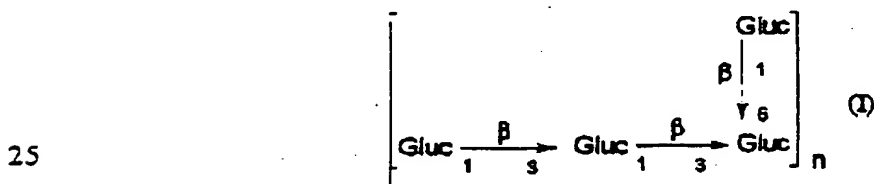
- 6). Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé par D1 et ne le cite pas.

SECTION VIII

- 7). La description n'a pas été adaptée aux nouvelles revendications (Art. 6 PCT).

REVENDICATIONS

1. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins une substance oligosaccharidique propre à
5 moduler les dérèglements de l'apoptose et comportant éventuellement, sur au moins certains de ses motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, la substance étant choisie dans le groupe comprenant
10 - les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et
- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique
15 ou chimique des carraghénanes, des agars et des porphyranes.
2. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un oligosaccharide propre à moduler les dérèglements
20 de l'apoptose et répondant à la formule



dans laquelle n représente un nombre entier de 1 à 50, de préférence de 5
30 à 10 et dans laquelle le nombre de branchements varie de 0 à 3 par unité de répétition.

3. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace d'au moins un disaccharide de répétition propre à moduler
35 les dérèglements de l'apoptose et répondant à la formule

figure 1.

6. Médicament caractérisé par le fait qu'il comporte, à titre de principe actif, une quantité efficace du produit propre à activer les dérèglements de l'apoptose et constitué par la fraction DP 7 du produit I, selon la revendication 4.

7. Procédé de préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, caractérisé par le fait que l'on fait comporter à une composition galénique au moins l'un des principes actifs des médicaments selon au moins l'une des revendications 1 à 6.

8. Utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, d'au moins l'une des substances oligosaccharidiques comportant éventuellement, sur au moins certains de leurs motifs unitaires, au moins un substituant du groupe comprenant les groupements sulfate, méthyle et acétyle, lesdites substances qui sont propres à moduler les dérèglements de l'apoptose étant choisies dans le groupe comprenant

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des polymères du groupe comprenant les β 1-3 glucans comportant éventuellement des ramifications β 1-6, et

- les oligosaccharides dérivés par voie enzymatique ou chimique des carraghénanes, des agars et des porphyranes.

9. Utilisation, en vue de la préparation d'un médicament pour le traitement des dérèglements de l'apoptose, des oligosaccharides de formule (I) et de ceux de formule (II).

10. Utilisation des produits désignés par I, et L₁₁ et du produit constituant la fraction DP 7 du produit I, selon la revendication 4 en vue de la préparation de médicaments pour le traitement des dérèglements de l'apoptose.

